

УДК 611.318-053.2

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МУКОЗАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ПРИ ВЕТРЯНОЙ ОСПЕ У ДЕТЕЙ В ПЕРИОД ПЕРВОГО ДЕТСТВА

¹Куркин А.В., ²Рыбалкина Д.Х., ¹Барышев Б.Б.

¹Медицинский университет Астана, Нур-Султан;

²Медицинский университет Караганды, Караганда, e-mail: alexander194126@inbox.ru

Проведен сравнительный анализ цитогрaмм и морфометрических параметров мукозальных эпителиоцитов в интактных от высыпаний участках слизистой оболочки ротовой полости в области щек при ветряной оспе у детей в период первого детства. Показано, что у больных детей мазки мукозального эпителия ротовой полости при ветряной оспе отличаются обильной клеточностью в связи со сравнительно большим содержанием лейкоцитов и увеличением числа эпителиоцитов с изменениями в клетках. Повышено содержание обсеменённых микробной флорой эпителиоцитов, дистрофически изменённых клеток с крупно- и мелкокапельной вакуолизацией цитоплазмы. Цитопатическое действие вируса приводит к гибели эпителиоцитов путём карлиозиса, карнопикноза и карioreкcиса. Возрастает уровень деструкции и появляется воспалительнo-деструктивный показатель. Также наблюдается омоложение эпителиального состава буккального мазка, что характеризуется возрастанием показателя левого сдвига: повышается процент клеток третьей стадии и появляются эпителиоциты первой и второй. У больных детей происходит снижение показателя дифференцировки эпителиоцитов слизистой оболочки полости рта: снижается число клеток пятой стадии и роговых чешуек. Изменяются цитометрические показатели эпителиоцитов различных стадий развития: снижается площадь клеток, увеличивается площадь ядер и, соответственно, возрастает ядерно-цитоплазматическое отношение. Разрыхление клеточного пласта, нарушение межклеточных связей приводят к появлению в мазке многоклеточных эпителиальных комплексов, которые в цитогрaмме здоровых детей не определяются.

Ключевые слова: цитология, буккальный эпителий, ветряная оспа, дети

REACTIVE CHANGES IN MUCOSAL EPITHELIAL CELLS OF THE ORAL CAVITY IN CASES OF CHICKEN POX IN CHILDREN DURING THE FIRST CHILDHOOD

¹Kurkin A.V., ²Rybalkina D.Kh., ¹Baryshev B.B.

¹Astana Medical University, Nur-Sultan;

²Karaganda Medical University, Karaganda, e-mail: alexander194126@inbox.ru

A comparative analysis of cytograms and morphometric parameters of mucosal epithelial cells in intact areas of the mucous membrane of the oral cavity of the cheeks during chicken pox in children during the first childhood period was carried out. It has been shown that in sick children, smears of the mucosal epithelium of the oral cavity in varicella are characterized by abundant cellularity due to a relatively high content of leukocytes and an increase in the number of epithelial cells with changes in the cells. The content of epitheliocytes contaminated with the microbial flora, dystrophically altered cells with large droplets and small droplets vacuolization of the cytoplasm is increased. The level of destruction increases and an inflammatory-destructive indicator appears. A rejuvenation of the epithelial composition of the buccal smear is also observed, which is characterized by an increase in the left shift index: the percentage of cells of the third stage increases and epithelial cells of the first and second epithelium appear. In sick children, there is a decrease in the differentiation rate of the epithelial cells of the oral mucosa: the number of fifth-stage cells and horny scales decreases. The cytometric indices of epithelial cells of various stages of development change: the area of cells decreases, the area of nuclei increases and, accordingly, the nuclear-cytoplasmic ratio increases. Loosening of the cell layer, intercellular communication disorders lead to the appearance of multicellular epithelial complexes in the smear, which are not detected in the cytogram of healthy children.

Keywords: cytology, buccal epithelium, chicken pox, children

Буккальный эпителий является частью мукозальной системы, которая характеризуется высокой чувствительностью к действию факторов внешней и внутренней среды. Он играет важную роль в диагностике социально значимых заболеваний [1, 2]. Буккальные эпителиоциты могут быть индикатором местных и общих нарушений гомеостаза у взрослых и детей [3–5]. Представляет практический интерес изучение показателя дифференцировки и реактивности буккального эпителия у детей при ветряной оспе. Это острое инфекционное вирусное заболевание, характеризующееся появлением

на коже и слизистых оболочках мелких пузырьков с прозрачным содержимым. Формирование ветряночного пузырька начинается с поражения клеток шиповатого слоя многослойного эпителия. Пораженные клетки подвергаются баллонной дистрофии, вплоть до полного некроза. Нами показаны изменения в цитогрaммах мазков буккального эпителия у детей разного возраста в норме и при ветряной оспе [6]. Однако в предыдущих работах не приводится анализ цитометрических параметров эпителиоцитов.

Цель исследования: изучение цитометрических параметров и реактивности му-

козальных эпителиоцитов ротовой полости при ветряной оспе у детей в период первого детства.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследований послужили мазки со слизистой оболочки выстилающего типа от 56 здоровых (контрольная группа) и 29 больных ветряной оспой детей легкой и средней степени тяжести в возрасте от 3 до 7 лет. До забора материала дети прополаскивали ротовую полость физиологическим раствором. Соскоб эпителия получали пластиковым шпателем со слизистой щеки. У детей с заболеванием слизистая оболочка отличалась незначительной гиперемией, иногда имели место энантемы. Соскоб эпителия проводили в интактных участках. Приготовленные мазки высушивали, фиксировали в спирт-ацетоне (1:1) в течение 5 мин и окрашивали метиленовым синим по Май-Грюнвальду (15 мин) и азур-эозином по Романовскому – Гимза (30 мин). На мазках из расчета на 1000 клеток определяли в процентах эпителиоциты различных стадий дифференцировки, нейтрофилы и лимфоциты, мононуклеары с цитоплазмой, голаядерные мононуклеары. По данным цитограмм изучали процессы дифференцировки буккальных эпителиоцитов. Для этого использовали показатель дифференцировки клеток, который представляет собой сумму клеток соответствующих стадий в процентах с учётом их цифровых обозначений. С целью изучения процессов ороговения эпителиальных клеток применяли показатель ороговения эпителиальных клеток, который равен отношению количества безъядерных пластинок к общему числу эпителиальных клеток в процентах. Для выявления омоложения клеточного состава определяли показатель левого сдвига, который равен отношению суммы базальных и парабазальных клеток к общему числу эпителиоцитов. Для количественной оценки цитологических изменений в эпителии применяли показатели деструкции и воспалительно-деструктивный индекс, который представляет собой отношение суммы количества лейкоцитов, голаядерных моноцитов и фибробластоподобных клеток к количеству неизменённых моноцитов. Цитометрически с помощью комплекса микроскоп – видеокамера – процессор определяли площади эпителиоцитов, ядер и ядерно-цитоплазматическое отношение. Статистический анализ полученных данных проводили с помощью профессионального пакета статистических программ Statsoft «Statistica-6», методами вариационной статистики.

Результаты исследования и их обсуждение

Мазок у детей от 3 до 7 лет при ветряной оспе отличается умеренной или обильной клеточностью (более 8 клеток в поле зрения микроскопа при увеличении $\times 600$), в отличие от нормы, где клеточность мазка только умеренная (не более 5–6 клеток в поле зрения). Фон препаратов при заболевании варьирует от прозрачного до слегка эозинофильного, в норме фон мазка прозрачный. Среди клеток различают эпителиоциты и лейкоциты. Количество эпителиальных клеток преобладает над

неэпителиальными и составляет в норме $94,7 \pm 1,02\%$. В норме среди эпителиоцитов в мазке выделяют клетки 3-й, 4-й, 5-й и 6-й стадий развития.

При ветряной оспе у детей в период первого детства в мазке появляется незначительное количество $0,1 \pm 0,04\%$ базальных клеток, которые соответствуют 1-й стадии дифференцировки, среди эпителиоцитов их число равно $0,2 \pm 0,05\%$. В норме эти клетки в соскобе отсутствуют. Они имеют округлую форму и интенсивно окрашенную базофильную цитоплазму. Ядра в них относительно крупные, тёмно-фиолетового цвета. Процентное содержание буккальных эпителиоцитов 2-й стадии дифференцировки, которые в нормальной цитограмме также отсутствуют, в мазке составляет $1,6 \pm 0,24\%$, среди эпителиоцитов их количество равно $2,4 \pm 0,27\%$. Цитоплазма клеток сохраняет базофильность, но менее интенсивной окраски, чем в эпителиоцитах 1-й стадии дифференцировки. Нередко наблюдается неровность контуров цитоплазмы до образования вытянутых участков. Ядро в эпителиоцитах также относительно крупное и тёмно-фиолетовое. Эпителиоциты 1-й стадии имеют небольшую площадь, которая в среднем равна $159 \pm 2,8$ мкм². Средняя площадь ядра базальных клеток составляет $98 \pm 1,3$ мкм². Ядерно-цитоплазматическое отношение данных клеток в среднем больше единицы ($0,64 \pm 0,097$). Площадь клеток 2-й стадии дифференцировки в среднем составляет $745 \pm 48,7$ мкм², то есть происходит её увеличение, по сравнению с клетками 1-й стадии ($p < 0,001$). Площадь ядра в среднем составляет $89 \pm 4,1$ мкм². ЯЦО эпителиоцитов 2 степени дифференцировки составляет в среднем $0,15 \pm 0,015$.

Содержание клеток 3-й стадии дифференцировки по отношению к норме увеличивается почти в 7 раз и составляет $11,5 \pm 0,89\%$, среди эпителиальных клеток их доля равна $17,9 \pm 1,06\%$. В норме содержание клеток 3-й стадии дифференцировки в цитограмме незначительно и составляет $2,7 \pm 0,53\%$, среди эпителиоцитов равно $2,9 \pm 0,53\%$. Площадь клеток 3-й стадии дифференцировки составляет в среднем $2167 \pm 68,7$ мкм², без значительных различий по сравнению с нормой ($2363 \pm 42,5$ мкм²). Площадь ядер в среднем равняется $111 \pm 1,7$ мкм², против $106 \pm 0,9$ мкм² незначительно увеличиваясь в размерах от нормы ($p < 0,05$). Ядерно-цитоплазматическое отношение эпителиоцитов 3-й стадии в среднем равняется $0,06 \pm 0,002$, против $0,05 \pm 0,001$, также несильно увеличиваясь по отношению к норме ($p < 0,01$). Эти клетки отличаются

овальной формой, цитоплазма в них умеренно-базофильна, в ядрах хроматин нежно-сетчатого характера. В эпителиоцитах под воздействием вируса ветряной оспы иногда выявляются морфологические проявления цитопатического действия, такие как вакуолизация ядра и цитоплазмы, внутриядерные эозинофильные и базофильные цитоплазматические включения. Обнаруживается микробная адгезия эпителиоцитов 3-й стадии от незначительного количества бактериальных тел на поверхности клетки до множественного, что в норме не наблюдается. Этот факт, по-видимому, отражает активность воспалительного процесса в слизистой ротовой полости.

Процентное содержание в мазках, у детей от 3 до 7 лет, эпителиоцитов 4-й стадии дифференцировки равняется $21,3 \pm 1,90\%$, что ниже нормы ($p < 0,001$), среди эпителиоцитов их количество составляет $33,1 \pm 1,90\%$. Число эпителиоцитов 4-й стадии в цитограмме в норме равно $31,1 \pm 1,70\%$, среди эпителиоцитов $33,7 \pm 1,70\%$. Площадь клеток 4-й стадии имеет среднее значение $2102 \pm 44,6 \text{ мкм}^2$, против $2549 \pm 13,4$, что меньше нормы. Площадь ядер в среднем равняется $94 \pm 1,1 \text{ мкм}^2$, незначительно увеличиваясь в объёме от нормы ($88 \pm 0,3 \text{ мкм}^2$). Ядерно-цитоплазматическое отношение в среднем составляет $0,08 \pm 0,001$, сохраняя тенденцию увеличения нормальных параметров ($0,04 \pm 0,001$). При ветряной оспе клетки сохраняют нормальный светло-базофильный тон цитоплазмы. В них также проявляется крупнокапельная вакуолизация цитоплазмы. Появляются двуядерные эпителиоциты и клетки с перетяжкой ядра, что, возможно, указывает на усиление процессов пролиферации.

Количество эпителиоцитов 5-й степени дифференцировки в цитограмме больных детей становится значительно меньше, чем у здоровых ($p < 0,001$), в среднем оно составляет $28,2 \pm 1,39\%$, среди эпителиоцитов их содержание равно $43,8 \pm 2,89\%$. В норме число клеток 5-й стадии превалирует в цитограмме и составляет $58,0 \pm 2,35$, среди эпителиоцитов – $61,2 \pm 2,12\%$. Уменьшение числа поверхностных эпителиоцитов свидетельствует о замедлении процессов дифференцировки клеток. Существенная разница между долевым содержанием эпителиальных клеток в цитограмме и среди эпителиоцитов объясняется значительным увеличением неэпителиального компонента цитограммы, по сравнению с нормой

Площадь клеток 5-й стадии составляет в среднем $1830 \pm 40,3 \text{ мкм}^2$, против $2511 \pm 9,8 \text{ мкм}^2$, что достоверно ниже, чем

в норме ($p < 0,001$). Площадь ядер в среднем имеет значение $68 \pm 1,0 \text{ мкм}^2$, против $67 \pm 0,2 \text{ мкм}^2$, не отличаясь от нормы. Ядерно-цитоплазматическое отношение составляет в среднем $0,04 \pm 0,001$, против $0,03 \pm 0,001$, сохраняя направленность превышения показателей нормы. Клетки имеют полигональную форму со слабобазофильной до оксифильной цитоплазмой. Ядра поверхностных клеток приобретают неправильную форму, всё более уменьшаясь в размере. При этом выявляются эпителиоциты с пикнотичными, гиперхромными ядрами, так как максимальная оптическая плотность ядер при ветряной оспе выше, чем в норме.

Процентное соотношение клеток 6-й степени дифференцировки в мазке составляет $1,7 \pm 0,14\%$, что ниже нормы ($p < 0,001$). Среди эпителиоцитов их число равно $2,6 \pm 0,14\%$. Процент клеток в норме составляет $2,1 \pm 0,27$, среди эпителиоцитов равен $2,2 \pm 0,22\%$. Они имеют неправильную форму. Цитоплазма безъядерных пластинок окрашивается в серый или белесый цвет. На месте ядра нередко видна полость. Средняя площадь клеток 6-й степени дифференцировки составляет $1379 \pm 15,8 \text{ мкм}^2$, против $1246 \pm 8,6 \text{ мкм}^2$ в норме. Адгезированные микробами клетки 3-й, 4-й и 5-й степеней дифференцировки в препаратах составляют $12,1 \pm 0,24\%$, это выше нормы ($p < 0,001$). У здоровых детей в $7,9 \pm 0,51\%$ наблюдается микробная адгезия эпителиальных клеток 4–5 стадий дифференцировки. Бактерии имеют округлую форму с диаметром около 1 мкм и фиолетовую окраску, располагаясь гроздьями или в виде цепочек. Увеличение процентного содержания обсеменённых эпителиоцитов в мазке у детей в период первого детства нельзя однозначно объяснить неудовлетворительной гигиеной полости рта во время заболевания. Выявление значительного числа бактерий, прикрепленных к поверхности эпителиоцитов, возможно подтверждает подавление активности обычных механизмов очищения слизистой оболочки полости рта. При этом микробы могут нарушить целостность эпителия, внедриться в него, и, действуя своими токсинами, усугубить цитопатическое воздействие вируса.

Дистрофически изменённые клетки с крупно- и мелкокапельной вакуолизацией цитоплазмы составляют $0,7 \pm 0,10\%$, против $0,2 \pm 0,08\%$, что выше нормы в 2,5 раза. Содержание фагирующих клеток равно $1,0 \pm 0,05\%$, против $0,2 \pm 0,01\%$. Цитопатическое действие вируса приводит к гибели эпителиоцитов путём кариолизиса, кариопикноза и кариорексиса. Кариологи-

ческие данные цитogramмы, указывающие на кариотоксическое действие вируса ветряной оспы, имеют следующие значения: кариолизис и кариорексис, соответственно $22,6 \pm 0,21\%$ и $3,2 \pm 0,10\%$; вакуолизация ядра в $4,9 \pm 0,04\%$; в $6,5 \pm 0,10\%$ встречаются двуядерные эпителиоциты и в $4,9 \pm 0,04\%$ клетки с перетяжкой ядра. Кариопикноз наблюдается в $26,9 \pm 0,28\%$.

Кроме различных типов эпителиальных клеток в препаратах определяются нейтрофилы, лимфоциты и макрофаги. Последние составляют $35,8 \pm 0,33\%$, против $5,3 \pm 0,29\%$ у здоровых, что в 6,5 раз выше нормы. Из лейкоцитов в цитогамме преобладают нейтрофилы в $24,4 \pm 0,98\%$, против $3,3 \pm 0,12\%$, среди которых большое количество разрушенных клеток. У нейтрофилов могут отмечаться проявления фагоцитарной функции – от единичных бактерий в цитоплазме до цитоплазмы, заполненной бактериями.

Тропизм вируса ветряной оспы к клеткам моноцитарно-макрофагальной системы вызывает изменение функциональной активности макрофагов, появляются признаки выраженной мембранной активности. Среди моноцитов ($5,8 \pm 0,46\%$), которые в норме составляют $1,1 \pm 0,09\%$, нередко встречаются голаядерные клетки, лишённые цитоплазмы, и балонирующие мононуклеары с ярко выраженной мелко- и крупнокапельной вакуолизацией цитоплазмы и ядра.

Заключение

В период первого детства мазки мукозального эпителия ротовой полости при ветряной оспе отличаются от нормы обильной клеточностью в связи со сравнительно большим содержанием лейкоцитов и увеличением числа эпителиоцитов с деструктивными изменениями в клетках. Повышается уровень деструкции и появляется воспалительно-деструктивный показатель.

Также наблюдается омоложение эпителиального состава буккального мазка, что характеризуется возрастанием показателя левого сдвига: повышается процент клеток третьей стадии и появляются эпителиоциты первой и второй. У больных детей происходит снижение показателя дифференцировки эпителиоцитов слизистой оболочки полости рта: снижается число клеток пятой стадии и роговых чешуек. Изменяются цитометрические показатели эпителиоцитов различных стадий развития: снижается площадь клеток, увеличивается площадь ядер и, соответственно, возрастает ядерно-цитоплазматическое отношение. Разрыхление клеточного пласта, нарушение межклеточных связей приводят к появлению в мазке многоклеточных эпителиальных комплексов, которые в цитогамме здоровых детей не определяются.

Список литературы

1. Пальцев М.А., Кветной И.М., Полякова В.О., Линькова Н.С., Костылев А.В. Сигнальные молекулы в буккальном эпителии: оптимизация диагностики социально значимых заболеваний // Молекулярная медицина. 2012. № 4. С. 18–23.
2. Полякова В.О., Пальцева Е.М., Крулевский В.А. Буккальный эпителий. Новые подходы к молекулярной диагностике социально значимой патологии. СПб.: Изд-во Н-Л, 2015. 128 с.
3. Юй Р.И. Цитологический анализ слизистой оболочки полости рта как достоверный критерий оценки её гистопатологии, патологии и эффективности лечения // Вестник КазНМУ. 2006. № 1. С. 299–314.
4. Доменюк Д.А., Давыдов Б.Н., Ведешина Э.Г., Ивченко Л.Г. Отклонения цитологических и функциональных показателей буккального эпителия у больных с аутоиммунным сахарным диабетом // Научно-практический журнал Института стоматологии. 2017. № 3 (76). С. 74–77.
5. Мейер А.Б. Генотоксические и цитотоксические в буккальных эпителиоцитах детей, проживающих в экологически различающихся районах Кузбасса // Цитология. 2010. Т. 52. № 4. С. 305–310.
6. Куркин А.В., Рыбалкина Д.Х. Реактивность буккального эпителия у детей // Морфология. 2011. Т. 139. № 1. С. 60–63.