

© И. В. Майбородин, И. М. Миникеев, С. А. Ким, Т. М. Рагимова, 2015
УДК 611.31.018.73:616.61-008.64-036.12

И. В. Майбородин¹, И. М. Миникеев², С. А. Ким³, Т. М. Рагимова¹

ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ (экспериментальное исследование)

¹ Центр новых медицинских технологий (зав. — проф. А. И. Шевела), Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск; ² отдел морфологии (зав. — проф. В. Х. Габитов), Научный центр реконструктивно-восстановительной хирургии Министерства здравоохранения Кыргызстана; ³ кафедра лучевой диагностики (зав. — проф. Р. Т. Аралбаев), Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации, г. Бишкек, Кыргызстан

Методами световой микроскопии изучены морфологические изменения слизистой оболочки полости рта у крыс (n=48) при хронической почечной недостаточности (ХПН) различной степени. Обнаружено, что через 6 мес после моделирования ХПН легкой и средней степени собственная пластинка слизистой оболочки полости рта диффузно инфильтрирована лейкоцитами, возрастает относительная плотность расположения компонентов кровеносного и лимфатического русла. При тяжелой ХПН у крыс происходит атрофия и развивается гиперкератоз эпителия слизистой оболочки ротовой полости, собственная пластинка слизистой оболочки склерозируется, в ней значительно увеличивается численная плотность лейкоцитов (в первую очередь, нейтрофилов, моноцитов), макрофагов, и формируются мелкие лейкоцитарные инфильтраты. Кроме того, при ХПН средней и тяжелой степени в собственной пластинке слизистой оболочки возрастает количество эозинофилов и плазматических клеток, что указывает на возможное присутствие аллергического компонента в инициации и поддержании в ней воспаления.

Ключевые слова: слизистая оболочка полости рта, лейкоцитарная инфильтрация, склероз, эозинофилия, хроническая почечная недостаточность

Хроническая почечная недостаточность (ХПН) вызывает поражение различных систем, обусловленное причинами, часть из которых в настоящее время остаются недостаточно изученными. Длительное течение ХПН приводит к развитию фиброзных изменений в интерстициальной ткани различных органов [1].

Данные литературы о влиянии ХПН на органы и ткани ротовой полости неоднозначны и иногда противоречивы. В одних из них отрицается зависимость состояния полости рта от ХПН [9, 15]; другие — свидетельствуют об отдельных умеренно выраженных изменениях [3, 4, 8, 12, 16, 19], третьи — указывают на значительно выраженные реакции [7, 14].

В клинических условиях на состояние слизистых оболочек оказывает влияние патологический процесс, идущий в почках и являющийся основной причиной ХПН. Вместе с этим в научной литературе крайне мало экспериментальных

данных о реакциях слизистой оболочки полости рта именно на ХПН, было найдено только одно сообщение о сочетании ХПН с пародонтитом [14].

Цель настоящего исследования — выявить в эксперименте основные реакции слизистой оболочки полости рта на ХПН различной выраженности.

Материал и методы. Эксперименты проводили на 6-месячных самцах крыс инбредной линии Wag массой 180–200 г. Все манипуляции с животными осуществляли под общим ингаляционным эфирным наркозом в условиях чистой операционной с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ МЗ СССР № 755 от 12 августа 1977 г.; приказ Министерства высшего и среднего специального образования СССР № 742 от 13 ноября 1984 г.).

Из многочисленных моделей ХПН была выбрана нефрэктомия [17, 18], которая позволяет избежать влияния индивидуальных реакций животных на введение того или иного вещества.

Сведения об авторах:

Майбородин Игорь Валентинович (e-mail: imai@mail.ru), Рагимова Тамара Михайловна, Центр новых медицинских технологий, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 8;

Миникеев Ильдар Масхатович, отдел морфологии, Научный центр реконструктивно-восстановительной хирургии МЗ Кыргызстана; Кыргызстан, 720051, г. Бишкек, ул. Саратовская, 10;

Ким Сергей Анатольевич, кафедра лучевой диагностики, Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации, Кыргызстан, 720040, г. Бишкек, ул. Боконбаева, 144а

Для морфологического исследования использованы 48 крыс — по 12 особей в группах: интактного контроля, ХПН легкой, средней и тяжелой степени.

В группе крыс с моделированием ХПН легкой степени выделяли левую почку, после перевязывания почки примерно по середине удаляли ее нижнюю часть, дополнительно для гемостаза обрабатывали место резекции марлевым тампоном с раствором тромбина (0,5 ЕД/мл). При моделировании ХПН средней степени выделяли левую почку, после перевязывания сосудов и мочеточника удаляли орган вместе с капсулой и надпочечником. У крыс с моделированием тяжелой ХПН полностью удаляли левую почку и нижнюю половину правой. Кроме того, для контроля тяжести ХПН и выбора сроков морфологических исследований применяли биохимический контроль плазмы крови в различные сроки после нефрэктомии, для этого было использовано 90 животных. ХПН была подтверждена определением концентрации мочевины и креатинина в крови. Содержание мочевины через 6 мес после хирургического вмешательства по моделированию ХПН составляло $4,8 \pm 1,6$; $12,0 \pm 1,4$; 24 ± 3 и $49,8 \pm 2,7$ ммоль/л, а креатинина — 54 ± 4 ; 82 ± 4 ; 130 ± 4 и 198 ± 9 мкмоль/л, соответственно, у интактных крыс и при ХПН легкой, средней и тяжелой степени. Животных выводили из эксперимента через 6 мес после нефрэктомии. Участки слизистой оболочки переходной складки десны в области нижних резцов (по характеру строения и месту локализации это была слизистая оболочка жевательной области рта) фиксировали в 4% растворе параформальдегида на фосфатном буфере (рН 7,4) не менее 24 ч, обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в парафин. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином Карazzi — эозином и по Ван Гизону, изучали под световым микроскопом Axioimager M1 (Zeiss, Германия) при увеличении до 1500 раз.

Для исследования структурной организации слизистой оболочки полости рта проводили измерения на изображениях, полученных при помощи цифровой видеокамеры микроскопа, на экране компьютера с использованием программного обеспечения морфологического модуля Axiovision (Zeiss, Германия).

Определяли число эпителиальных клеток, расположенных на 10^3 мкм длины среза базальной мембраны, оценивали долю площади среза, занимаемую кровеносными, лимфатическими сосудами и интерстициальными пространствами. Дифференцирование кровеносных и лимфатических сосудов проводили в соответствии с рекомендациями J.R.Head, L.L.Seeling [10]. Согласно данным этих исследователей, идентификация лимфатических сосудов на гистологических срезах должна основываться на их неправильной форме и содержании лимфы, неравномерно окрашенной из-за высокой концентрации различных белков. Наоборот, кровеносные сосуды обычно пусты или содержат большое число эритроцитов. Размер лимфатических сосудов, как правило, большой, они имеют очень тонкий эндотелий без непрерывной базальной мембраны. Ядра эндотелиоцитов лимфатических сосудов и капилляров круглые, значительно выступают в их просвет. Эндотелий сосудов кровеносного русла более толстый, на единице длины эндотелия содержится больше клеточных ядер, которые уплощены и практически никогда не выступают в просвет сосуда.

На стандартной площади среза (10^5 мкм²) в собственной пластинке десны определяли содержание эритроцитов и различных тканевых клеточных элементов: лимфоцитов, нейтрофилов, моноцитов, плазмоцитов, тучных клеток, макро-

фагов, а также долю клеточных элементов с признаками деструктивных изменений ядра и цитоплазмы (кариопикноз, кариорексис, кариолизис, вакуолизация цитоплазмы и т.п.).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью прикладной статистической программы MS Excel 7.0 (Microsoft, США), определяли среднее арифметическое значение и его стандартное отклонение. Значимость различий сравниваемых величин определяли на основании критерия Стьюдента. Различия считали значимыми при $P \leq 0,05$. Учитывали, что распределение исследуемых признаков было близким к нормальному.

Результаты исследования. При ХПН легкой степени через 6 мес после нефрэктомии отмечены незначительные явления склероза собственной пластинки слизистой оболочки полости рта, при этом увеличивается количество лейкоцитов и расширяются компоненты кровеносного и лимфатического русла (рисунки, а, б).

При ХПН средней и особенно тяжелой степени выраженности было обнаружено значительное склерозирование слизистой оболочки. Эпителиальная выстилка имела признаки атрофии и гиперкератоза. Сосудов всех типов в слизистой оболочке было мало, но резко увеличено число лейкоцитов, имелись мелкие лейкоцитарные инфильтраты с преобладанием в них лимфоцитов (см. рисунок, в–е).

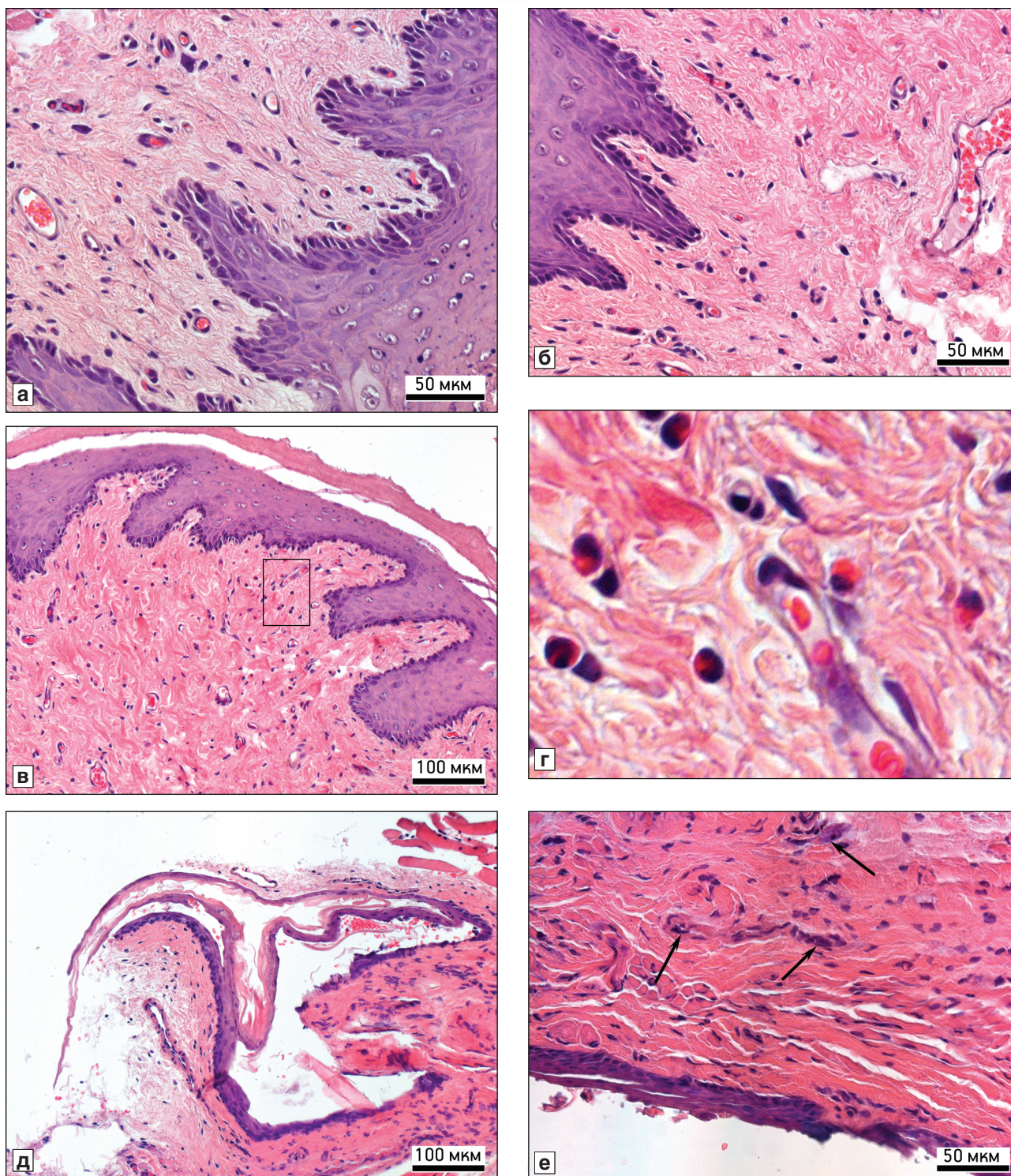
При ХПН средней и тяжелой степени количество эпителиальных клеток на единице длины базальной мембраны было значимо больше на 22,3 и 27,1% соответственно, чем у интактных животных (118 ± 8 эпителиоцитов на 10^3 мкм длины среза базальной мембраны).

Относительная площадь кровеносных сосудов на срезе слизистой оболочки при ХПН средней и тяжелой степени была меньше, чем при ХПН легкой степени ($4,5 \pm 0,7\%$), в 2,6 и 3 раза соответственно (см. рисунок, а–е).

Доля площади, занимаемая на срезе лимфатическими сосудами при ХПН легкой степени ($3,8 \pm 1,1\%$), была выше на 47,2, 55,7% и в 4,2 раза соответственно по сравнению с таковой у интактных крыс и у животных с ХПН средней и тяжелой степени. При тяжелой ХПН величина данного показателя была меньше в 2,9 и 2,7 раза соответственно, чем у интактных крыс и при ХПН средней степени (см. рисунок, а–е).

Относительная площадь интерстициальных пространств при ХПН легкой степени ($4,8 \pm 0,7\%$) была значимо больше (на 80,9 и 70,7% соответственно), чем у интактных животных и крыс с тяжелой ХПН.

При ХПН легкой, средней и тяжелой степени численная плотность всех клеток в слизистой оболочке была больше в 3,7, 4,3 и 4,3 раза соот-



Слизистая оболочка полости рта интактной крысы (а) и через 6 мес после моделирования хронической почечной недостаточности (ХПН) (б-е).

а — многослойный плоский эпителий, в собственной пластинке слизистой оболочки умеренное количество лейкоцитов, небольшие кровеносные и лимфатические сосуды; б — при ХПН легкой степени в собственной пластинке слизистой оболочки умеренные явления склероза, расширенные лимфатические и кровеносные сосуды; в — при ХПН средней степени гиперкератоз эпителия, склероз и эозинофильная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки, сосудистый компонент не выражен; г — фрагмент рис. в, очерченного рамкой. Эозинофилы в собственной пластинке слизистой оболочки; д — деформация слизистой оболочки полости рта после моделирования тяжелой ХПН. Эпителий атрофичен, явления гиперкератоза; е — при ХПН эпителий ротовой полости атрофичен; собственная пластинка слизистой оболочки значительно склерозирована, видна диффузная и мелкоочаговая лейкоцитарная инфильтрация (стрелки), сосудов практически нет. Окраска гематоксилином—эозином

ветственно, чем у интактных животных (89 ± 10 клеток на 10^5 мкм² площади среза).

Доля лимфоцитов при ХПН легкой, средней и тяжелой степени была значимо ниже на 23,3, 34 и 46,9% соответственно, чем у интактных крыс ($70 \pm 4\%$ от числа всех клеток). Абсолютное количество этих лейкоцитов, наоборот, больше в 3, 3,2 и 3 раза также соответственно и также по сравнению с таковым у интактных крыс (70 ± 4 на 10^5 мкм² площади среза). Абсолютное содержание тучных клеток при ХПН средней и тяжелой степени было больше в 9,5 и 8,2 раза, чем у интактных животных ($0,7 \pm 0,5$). Количество эритроцитов на единице площади среза слизистой оболочки только при тяжелой ХПН было больше в 12 раз, чем у интактных животных ($0,6 \pm 0,7$ эритроцитов). Численная плотность нейтрофилов при ХПН легкой, средней и тяжелой степени была выше в 4,6, 5,5 и 5,6 раза соответственно, чем у интактных животных (20 ± 4 клетки). Численная плотность моноцитов при ХПН легкой и средней степени была больше в 6,5 и 8,7 раза соответственно по сравнению с таковой у интактных крыс ($1,1 \pm 0,3$).

Относительное содержание макрофагов при ХПН средней и тяжелой степени было выше на 84,3% и в 2,4 раза соответственно, чем у интактных животных ($2,7 \pm 0,8\%$). Их абсолютное количество при ХПН легкой, средней и тяжелой степени было больше в 6,5, 7,9 и 10,1 раза также соответственно и также по сравнению с таковым у интактных крыс ($2,4 \pm 0,7$ клеток).

Доля плазматических клеток при ХПН средней и тяжелой степени была значимо выше в 3,4 и 3,8 раза соответственно, чем у интактных животных ($1,3 \pm 0,5\%$). Абсолютное их количество при ХПН легкой, средней и тяжелой степени было больше в 8,3, 14,6 и 16,2 раза соответственно, также по сравнению с контролем ($1,2 \pm 0,5$ клеточных элементов на единице площади среза).

Относительное содержание клеток с признаками деструкции при ХПН средней и тяжелой степени было значимо выше в 6,5 и 7,8 раза соответственно по сравнению с контролем. Абсолютное количество таких клеточных элементов при ХПН легкой, средней и тяжелой степени было больше в 27,3 и 34,3 раза соответственно по сравнению с таковым у интактных животных.

Следует отметить высокое содержание эозинофилов у отдельных особей со средней и тяжелой ХПН (см. рисунок, в, г).

Обсуждение полученных данных. ХПН сопровождается иммуносупрессией [15, 17], в некоторых случаях отмечен низкий уровень IgA в слюне [19], что приводит к снижению защитных

свойств эпителиальной выстилки полости рта и в целом ее слизистой оболочки, которая контактирует с внешней средой и куда проникают множество микроорганизмов.

При длительно протекающей ХПН средней и тяжелой степени происходит атрофия эпителия полости рта и усиливается сдвигивание клеток с его поверхности, в результате постоянного раздражения тканей происходит избыточное ороговение эпителия [5], развивается гиперплазия десны [7, 16].

Процессы повреждения эпителиальной выстилки компенсируются повышенной митотической активностью клеток ее базального слоя. Эти клетки имеют небольшие размеры, на единице длины базальной мембраны у всех животных с ХПН их содержится больше, чем у интактных крыс.

В норме в слизистой оболочке полости рта присутствует небольшое количество различных лейкоцитов, в основном лимфоцитов, осуществляющих функции местного иммунитета, контролирующего поступление антигенов через эпителий и элиминирующих проникшие микроорганизмы.

Массивное проникновение бактерий из полости рта через поврежденный эпителий в отечные ткани слизистой оболочки полости рта у животных с ХПН обуславливает миграцию в нее различных лейкоцитов, что приводит к резкому возрастанию их численной плотности и даже формированию мелких лейкоцитарных инфильтратов.

Увеличение содержания плазматических клеток при ХПН средней и тяжелой степени, скорее всего, свидетельствует о длительности и тяжести воспалительного процесса [2]. У некоторых животных с ХПН средней и тяжелой степени отмечено значительное увеличение численности эозинофилов, что подтверждает присутствие значительного аллергического компонента в инициации и поддержании воспаления в тканях слизистой оболочки полости рта. Таким образом, можно говорить о длительно протекающем гингивите различной степени выраженности. Эти изменения менее выражены у крыс с легкой степенью ХПН и нарастают по мере прогрессирования недостаточности функции почек. Точно такие же воспалительные изменения слизистой оболочки полости рта отмечают другие исследователи, имеются данные о развитии при ХПН гингивита [6] и уремического стоматита [3].

Длительно протекающий (хронический) воспалительный процесс, сопровождающийся постоянным повреждением и регенерацией ткани, завершается ее склеротической трансформацией, что было отмечено в слизистой оболочке полости рта

у животных со средней и тяжелой степенью ХПН. В пользу этого свидетельствует и атрофия эпителия, о которой сообщают и другие авторы [4, 8].

Активные склеротические процессы подтверждаются повышением численности тучных клеток в собственной пластинке слизистой оболочки полости рта. Эти клетки принимают непосредственное участие в формировании соединительной ткани как с помощью самостоятельного синтеза некоторых типов коллагена, так и путем образования ростовых и трансформирующих факторов и других биологически активных веществ, влияющих на фибробласты [11].

Любая воспалительная реакция, в том числе и протекающая в полости рта, сопровождается сосудистыми нарушениями, кровеносные и лимфатические сосуды сначала расширяются, а затем ток крови и лимфы в них останавливается. Этот процесс необходим для предотвращения гематогенной и лимфогенной диссеминации инфекции из воспалительного очага [13].

При легкой степени ХПН было отмечено резкое повышение относительной площади, занимаемой кровеносными и лимфатическими сосудами, на срезе слизистой оболочки полости рта. Однако при ХПН средней и тяжелой степени этот показатель находится на уровне интактного контроля или даже ниже его. По-видимому, это связано со склеротической трансформацией тканей полости рта в группах крыс со значительно выраженной ХПН. Вместе с этим, воспаление и сосудистые изменения имеют место даже в этих группах, на что указывает увеличение численности эритроцитов в собственной пластинке слизистой оболочки при тяжелой ХПН.

Как свидетельствуют полученные результаты, ХПН, даже легкой степени, длительностью 6 мес приводит у крыс к значительным изменениям слизистой оболочки полости рта, заключающимся в атрофии эпителия, склеротической трансформации собственной пластинки слизистой оболочки, гингивите, сопровождающимся диффузной и очаговой лейкоцитарной инфильтрацией и сосудистыми изменениями.

Можно согласиться с мнением исследователей, что состояние полости рта может являться статистически значимым фактором заблаговременного предсказания нарушений почечной фильтрации [12].

ЛИТЕРАТУРА

- Ландышев Ю.С., Целуйко С.С., Щербань Н.А. Морфологические особенности поражения респираторной системы при хронической почечной недостаточности (экспериментальное исследование) // Дальневосточный мед. журн. 2011. № 2. С. 81–83.
- Майбородин И.В., Войтович А.Б., Козлова Е.В. и др. Формирование плазмоцитарных инфильтратов в десне пациентов с хроническим верхушечным периодонтитом // Морфология. 2009. Т. 135, вып. 2. С. 43–47.
- Antoniades D.Z., Markopoulos A.K., Andreadis D. et al. Ulcerative uremic stomatitis associated with untreated chronic renal failure: report of a case and review of the literature // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 2006. Vol. 101, № 5. P. 608–613.
- Bossola M., Tazza L. Xerostomia in patients on chronic hemodialysis // Natl. Rev. Nephrol. 2012. Vol. 8, № 3. P. 176–182.
- Bots C.P., Brand H.S., Poorterman J.H. et al. Oral and salivary changes in patients with end stage renal disease (ESRD): a two year follow-up study // Br. Dent. J. 2007. Vol. 202, № 2. P. E3.
- Braosi A.P., Souza de C.M., Luczynsyn S.M. et al. Analysis of IL1 gene polymorphisms and transcript levels in periodontal and chronic kidney disease // Cytokine. 2012. Vol. 60, № 1. P. 76–82.
- Davidovich E., Schwarz Z., Davidovitch M. et al. Oral findings and periodontal status in children, adolescents and young adults suffering from renal failure // J. Clin. Periodontol. 2005. Vol. 32, № 10. P. 1076–1082.
- Dirschnabel A.J., Martins Ade S., Dantas S.A. et al. Clinical oral findings in dialysis and kidney-transplant patients // Quintessence Int. 2011. Vol. 42, № 2. P. 127–133.
- Garcez J., Limeres Posse J., Carmona I.T. et al. Oral health status of patients with a mild decrease in glomerular filtration rate // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 2009. Vol. 107, № 2. P. 224–228.
- Head J.R., Seeling L.L.Jr. Lymphatic vessels in the uterine endometrium of virgin rats // J. Reprod. Immunol. 1984. Vol. 6, № 3. P. 157–166.
- Hoshi K., Amizuka N., Kurokawa T. et al. Histopathological characterization of melorheostosis // Orthopedics. 2001. Vol. 24, № 3. P. 273–277.
- Ioannidou E., Shaqman M., Burleson J., Dongari-Bagtzoglou A. Periodontitis case definition affects the association with renal function in kidney transplant recipients // Oral Dis. 2010. Vol. 16, № 7. P. 636–642.
- Isling L.K., Aalbaek B., Schröder M., Leifsson P.S. Pyelonephritis in slaughter pigs and sows: morphological characterization and aspects of pathogenesis and aetiology // Acta Vet. Scand. 2010. Vol. 52. P. 48.
- Mandalunis P.M., Steimetz T., Castiglione J.L., Ubios A.M. Alveolar bone response in an experimental model of renal failure and periodontal disease: a histomorphometric and histochemical study // J. Periodontol. 2003. Vol. 74, № 12. P. 1803–1807.
- Marakoglu I., Gursoy U.K., Demirel S., Sezer H. Periodontal status of chronic renal failure patients receiving hemodialysis // Yonsei Med. 2003. Vol. 44, № 4. P. 648–652.
- Nishide N., Nishikawa T., Kanamura N. Extensive bleeding during surgical treatment for gingival overgrowth in a patient on haemodialysis — a case report and review of the literature // Aust. Dent. J. 2005. Vol. 50, № 4. P. 276–281.
- Raskova J., Czerwinski D.K., Shea S.M., Raska K. Jr. Cellular immunity and lymphocyte populations in developing uremia in the rat // J. Exp. Pathol. 1986. Vol. 2, № 4. P. 229–245.
- Satirapoj B., Bruhn K.W., Nast C.C. et al. Oxidized low-density lipoprotein antigen transport induces autoimmunity in the

renal tubulointerstitium // Am. J. Nephrol. 2012. Vol. 35, № 6. P. 520–530.

19. Souza C.R., Libério S.A., Guerra R.N. et al. Assessment of periodontal condition of kidney patients in hemodialysis // Rev. Assoc. Med. Bras. 2005. Vol. 51, № 5. P. 285–289.

Поступила в редакцию 15.01.2014

Получена после доработки 12.03.2014

CHANGES IN THE MUCOUS MEMBRANES OF THE ORAL CAVITY IN CHRONIC RENAL FAILURE (EXPERIMENTAL STUDY)

*I.V.Maiborodin¹, I.M.Minikeyev², S.A.Kim³,
T.M.Ragimova¹*

Methods of light microscopy were used to study the morphological changes of the oral cavity mucosa in rats (n=48) in chronic renal failure (CRF) of various degrees. It was found that after 6 months of modeling of mild and moderate CRF, lamina propria of the oral cavity mucous membranes was diffusely infiltrated

with leukocytes. At the same time, relative density of the distribution of the components of blood and lymphatic vascular bed was increased. In severe CRF, the atrophy and hyperkeratosis of the epithelium of the oral cavity mucous membrane developed, while the lamina propria demonstrated sclerosis and significant increase of leukocyte (primarily neutrophil and monocyte) and macrophage numerical density with the formation of small leukocyte infiltrates. In addition, in moderate and severe CRF, the number of eosinophils and plasma cells was increased in the lamina propria which indicates the possible presence of allergic component in the initiation and maintenance of its inflammation.

Key words: *oral cavity mucosa, leukocytic infiltration, sclerosis, eosinophilia, chronic renal failure*

¹ Center of New Medical Technologies, RAS Siberian Branch Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia; ² Department of Morphology, Scientific Center of Reconstructive and Restorative surgery, Bishkek, Kyrgyzstan; ³ Department of Radiology, Kyrgyz State Medical Institute for Retraining and Qualifications Improvement, Bishkek, Kyrgyzstan