

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«КРЫМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО»

**ПРОБЛЕМЫ, ДОСТИЖЕНИЯ
И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
И ПРАКТИЧЕСКОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**

ТРУДЫ
ГОСУДАРСТВЕННОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«КРЫМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. С.И. ГЕОРГИЕВСКОГО»

2010, ТОМ 146, часть VI

Издается с 1935 г.

Симферополь
2010

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор

А.А. Бабанин

А.В.Кубышкин (зам. главного редактора),
Ю.А.Бабушкин (ответственный секретарь), *Н.П. Буглак, С.Г. Безруков,*
В.А. Белоглазов, С.Г. Донич, Л.В. Дударь, Е.В. Евстафьева, К.А. Ефетов,
В.В. Жебровский, А.К. Загоруйко, Н.Н. Каладзе, В.Ф. Кубышкин,
В.С. Пикалюк, О.А. Притуло, А.Н. Рыбалка, В.П. Самохвалов

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Е.Н. Амосова (Киев), *С.П. Бережкова, И.В.Богадельников,*
Н.Ф. Боброва (Одесса), *Ю.П. Вдовиченко* (Киев), *А. Виткус* (Литва),
Н.Н. Волобуев, Л.В. Гербильский (Днепропетровск), *М.Н. Гришин,*
А.А. Горлов, *Г.Н. Дранник* (Киев), *А.Е. Двирский,*
Г.В.Дзяк (Днепропетровск), *В.В. Ежов* (Ялта), *В.М. Ефетов, С.И. Жадько,*
М.В. Иванова, Н.В. Иванова, И.Л. Кляритская, Т.В. Кобец,
Н.В. Коваленко (Киев), *Е.С. Короленко, Ю.А. Криворутченко,*
С.Н. Крутиков, О.В. Крючкова, Н.С. Кузнецов, Г.М. Кушнир, К. А. Лазарев,
А.Н. Пархоменко (Киев), *Н.В. Пасечникова* (Одесса), *В.Ф. Русяев, И.Д. Сапегин,*
С.С. Солдатченко (Ялта), *Б.В. Троценко, В.З. Харченко, О.Ч. Хаджиев, А.А. Хренов,*
А.П. Чуриков (Киев), *Ю.Б. Чайковский* (Киев), *Е.Ю. Шаповалова, С.Э. Шибанов*

Рекомендовано к изданию постановлением Ученого Совета Крымского государственного
медицинского университета им. С.И. Георгиевского от 15.06.2010 г. (протокол №6)

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ЯЗЫКА В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ

А.Б. Селькіна, В.І. Шепітько, Г.А. Єрошенко

ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія», кафедра гістології, цитології та ембріології (зав. – проф. В.І. Шепітько), м. Полтава

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЯЗЫКА В НОРМЕ И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ

А.Б. Селькина, В.И. Шепитько, Г.А. Ерошенко

Резюме

Введение крысам криоконсервированной плаценты вызывает изменения во всех структурных компонентах слизистой оболочки спинки языка. Реакция эпителиальной пластинки проявляется усилением пролиферативных процессов, собственной пластинки — отеком межклеточного вещества и расширением емкостного звена гемомикро-циркуляторного русла. В ответ на поступление в организм антигенов в собственной пластинке определяются реактивные изменения количества клеток лейкоцитарного ряда и тканевых базофилов. Наличие в криоконсервированной плаценте биологически активных веществ способствует быстрой реализации иммунного ответа и возобновлению морфофункционального состояния слизистой оболочки спинки языка до 7 суток наблюдения.

STRUCTURAL ORGANIZATION OF LINGUAL MUCOSA IN A NORM AND AFTER KRYOPRESERVED PLACENTA'S TRANSPLANTATION

A.B. Sel'kina, V.I. Shepit'ko, G.A. Yeroshenko

Summary

Introduction of the kryopreserved placenta to the rats causes changes in all structural components of the dorsal lingual mucosa. The reaction of epithelial plate shows up strengthening of proliferative processes, own plate — by the edema of intercellular matter and expansion of capacity link of haemomicrocircular rate. In reply to entering organism of antigens the reactive changes of leucocytical cells amount and tissue basophilies are determined in an own plate. A presence in the kryopreserved placenta of bioactive matters is instrumental in rapid realization of immunity answer and proceeding in the morphofunctional state of the dorsal lingual mucosa to 7 days of supervision.

Ключові слова: кріоконсервована плацента, слизова спинки язика, щур.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України «Розробка нових методів кріобіологічних технологій, використання кріоконсервованих ембріональних тканин, тканин людини та тварин в медицині» № державної реєстрації 0199U000323.

Особливий інтерес фундаментальної та прикладної стоматології в останні роки викликають потенційні можливості клітинної та тканинної трансплантації в лікуванні запальних захворювань слизової оболонки порожнини рота, які традиційна фармакологія побороти не в змозі. Надії на ефективність трансплантації ембріональних тканин та клітин пов'язані як з визначенням їх фармакокінетики на основі нових загальнобіологічних концепцій та теорій, так і технологічним проривом в можливостях приготування та введення в організм реципієнта [2]. В цей же час залишається недостатньо з'ясованим мор-

фофункціональний стан слизової оболонки язика після трансплантації кріоконсервованої плаценти [5]. Метою роботи було визначення структурних особливостей слизової оболонки спинки язика після введення кріоконсервованої плаценти.

Матеріал і методи дослідження

Експеримент виконано на 30 статевозрілих щурах-самцях лінії „Вістар”, масою 128-134 грам, що утримувались в стандартних умовах ЕБК ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», з дотриманням загальноприйнятих правил [6, 7]. 5 тварин склали контрольну групу, 25 щурам одноразово вводили кріоконсервовану плаценту шляхом підшкірної підсадки її шматочків розмірами 0,5x0,5x0,5 см, об'ємом — 0,125 см³ на плечі. На рану накладали асептичну пов'язку. Тварин виводили з експерименту на 2, 7, 14, 21 і 30 добу експерименту шляхом передозування наркозу. Після взяття матеріалу шматочки

тканин ущільняли в ЕПОН-812 за загальноприйнятою методикою [3]. Напівтонкі зрізи виготовляли на ультрамікромомі УМТП-7 Сумського ПО «Електрон» (Україна) і забарвлювали толуїдиновим синім.

Вивчення особливостей будови слизової оболонки язика проводили за допомогою світлового мікроскопу, визначення товщини епітеліального шару, висоти сосочків, діаметрів судин гемомікроциркуляторного русла за допомогою окуляр-мікрометра МОВ-16^х, клітин лейкоцитарного ряду в складі власної пластинки — шляхом підрахунку клітин методом стандартних площин за допомогою окулярної вставки по Г.Г. Автанділову [1]. Отримані дані оцінювали по загальноприйнятих статистичних методах [4].

Результати дослідження та їх обговорення

Дорсальна поверхня язика щурів вкрита слизовою оболонкою спеціалізованого типу, яка представлена епітеліальним шаром та влас-

ною пластинкою. Епітелій зроговілий і утворює сосочки — ниткоподібні, листоподібні, грибоподібні і жолобуваті. Власна пластинка слизової оболонки утворена пухкою сполучною тканиною і на межі з епітелієм формує сосочки, які на значну відстань проникають в епітеліальний шар. Кровообіг слизової оболонки дорсальної поверхні язика забезпечується мікросудинами сполучнотканинного сосочка та власної пластинки під сосочками у пухкій сполучній тканині у вигляді судинної сітки. Проведене морфометричне дослідження компонентів слизової оболонки дорсальної поверхні язика встановило, що у щурів контрольної групи в епітелії середня кількість шарів базальних клітин складала $1,6 \pm 0,2$, шипуватих — $3,3 \pm 0,3$, зернистих — $2,4 \pm 0,2$ і рогових лусочок — $3,2 \pm 0,2$. Висота сполучнотканинних сосочків в середньому складала $60,9 \pm 0,61$ мкм (табл. 1).

Захисна функція слизової оболонки порожнини рота забезпечується клітинами в складі епітеліальної пластинки (клітини Лангерганса, макрофаги, лімфоцити). У власній

Таблиця 1

Морфометричні показники слизової оболонки спинки язика щурів після підшкірної трансплантації кріоконсервованої плаценти

	Висота сосочків (мкм)	Кількість шарів клітин в епітелії			
		Базальних	Шипуватих	Зернистих	Рогових
Контрольна група	$61,0 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,2$	$3,2 \pm 0,2$
2 доба	$26,7 \pm 0,4^*$	$2,7 \pm 0,2^*$	$3,2 \pm 0,3$	$4,8 \pm 0,2^*$	$1,7 \pm 0,3^*$
7 доба	$41,3 \pm 0,4^*, **$	$3,2 \pm 0,2^*, **$	$2,5 \pm 0,3^*, **$	$1,6 \pm 0,1^*, **$	$4,6 \pm 0,4^*, **$
14 доба	$57,0 \pm 0,5^*, **$	$2,3 \pm 0,2^*, **$	$2,9 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,2^{**}$	$2,8 \pm 0,2^{**}$
21 доба	$58,7 \pm 0,4^*, **$	$1,7 \pm 0,1^{**}$	$3,2 \pm 0,2$	$2,5 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,2$
30 доба	$62,0 \pm 0,6^{**}$	$1,6 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,2$	$3,2 \pm 0,3$

Примітка: * — $p \leq 0,05$ порівняно з інтактною групою, ** — $p \leq 0,05$ порівняно з попереднім терміном спостереження.

Таблиця 2

Зміни кількості лейкоцитів в слизовій оболонці спинки язика щурів після підшкірної трансплантації кріоконсервованої плаценти

	Тканинні базофіли	Лімфоцити	Макрофаги	Плазмоцити
контрольна група	$1,20 \pm 0,29$	$0,90 \pm 0,23$	$1,0 \pm 0,29$	$0,40 \pm 0,22$
2 доба	$3,20 \pm 0,18^*$	$3,20 \pm 0,21^*$	$6,30 \pm 0,16^*$	$3,70 \pm 0,21^*$
7 доба	$2,00 \pm 0,14^*, **$	$1,20 \pm 0,19^{**}$	$3,00 \pm 0,16^*, **$	$2,80 \pm 0,22^*, **$
14 доба	$0,90 \pm 0,16^{**}$	$1,20 \pm 0,14$	$2,60 \pm 0,18^*, **$	$1,50 \pm 0,12^*, **$
21 доба	$1,20 \pm 0,20$	$1,00 \pm 0,16$	$1,30 \pm 0,14^{**}$	$0,60 \pm 0,14^{**}$
30 доба	$1,10 \pm 0,14$	$1,00 \pm 0,14$	$1,10 \pm 0,18$	$0,50 \pm 0,16$

Примітка: * — $p \leq 0,05$ порівняно з інтактною групою, ** — $p \leq 0,05$ порівняно з попереднім терміном спостереження.

пластинці система імунного захисту представлена макрофагами, тучними клітинами, лімфоцитами, плазматичними клітинами. У щурів контрольної групи у власній пластинці визначались лімфоцити ($0,9 \pm 0,23$ в п/з), макрофаги ($1,0 \pm 0,29$ в п/з), плазматичні клітини ($0,4 \pm 0,22$ в п/з) і тканинні базофіли ($1,2 \pm 0,29$ в п/з) (табл. 2).

Після трансплантації кріоконсервованої плаценти на другу добу експерименту нами визначено різке зменшення висоти сосочків більш ніж вдвічі до $26,7 \pm 0,31$ мкм ($p \leq 0,05$). В базальному і найбільше в шипуватому шарах підвищилась кількість інтраепітеліальних лімфоцитів. На верхівках епітеліальних сосочків виявлялось посилення мітотичної активності базальних клітин, що підтверджувалось даними морфометричного аналізу — середня кількість шарів клітин збільшилась на 68 відсотків. В базальному шарі епітелію з боку верхівок сполучнотканинних сосочків базальна поверхня епітеліоцитів утворювала чисельні «ніжки». В зернистому шарі кількість шарів клітин збільшилась вдвічі (з $2,4 \pm 0,21$ до $4,8 \pm 0,26$ в п/з). Кількість шарів рогових лусочок зменшилась вдвічі.

До 7 доби експерименту спостерігалось відновлення висоти сосочків, але значення не відповідали показникам в контрольній групі тварин. Кількість шарів клітин в базальному шарі збільшилась відносно значень в контрольній групі (на 100 %) і попередній експериментальній (на 20 %). Значуще зменшилась кількість шарів клітин в шипуватому шарі (з $3,2 \pm 0,31$ до $2,5 \pm 0,30$ в п/з), а також в зернистому до мінімальних значень за весь термін спостереження до $1,6 \pm 0,12$ в п/з. Помітно збільшилась кількість шарів в роговому шарі до максимальних значень протягом експерименту і на 30 % була більшою, ніж в контрольній групі (див. табл. 1), що свідчило про гальмування відшарування рогових лусочок з поверхні епітелію на 7 добу після трансплантації кріоконсервованої плаценти.

До 14 доби експерименту зберігалась тенденція до відновлення висоти сосочків, однак значення вірогідно відрізнялись від показників в контрольній і попередній експериментальній групах. В базальному шарі кількість шарів клітин вірогідно зменшилась порівняно з попереднім терміном спостереження, але значення в контрольній групі перевищувала. В шипуватому, зернистому і роговому шарах кількість шарів клітин від інтактної групи не відрізнялась, а в шипуватому — і від попереднього терміну спостереження, що свідчило про відновлення функціонального стану епітеліальної пластинки слизової оболонки

дорсальної поверхні язика щурів на 14 добу експерименту (див. табл. 1). На 21 добу експерименту висота сосочків подовжувала відновлюватись, але перевищуючі значення в попередній термін спостереження, вірогідно від значень в контрольній групі відрізнялась. Кількість клітин в усіх шарах епітеліальної пластинки на цей термін відповідала значенням в контрольній групі. До 30 доби всі вивчені показники епітелію слизової пластинки дорсальної поверхні язика від значень в контрольній групі тварин не відрізнялись.

Після трансплантації кріоконсервованої плаценти на другу добу експерименту нами визначені морфологічні ознаки набряку сполучної тканини у власній пластинці дорсальної поверхні язика, що проявлялось зменшенням оптичної щільності і зменшенням висоти сполучнотканинних сосочків. Відновлення висоти сполучнотканинних сосочків відзначалось до 14 доби спостереження і свідчило про відновлення гомеостазу сполучної тканини до цього терміну.

Вивчення реакції судин гемомікроциркуляторного русла на трансплантацію кріоконсервованої плаценти визначило, що на другу добу середній діаметр артеріол вірогідно зменшився до $14,5 \pm 0,25$ мкм (в контрольній групі $15,2 \pm 0,32$ мкм, $p \leq 0,05$). Значення середнього діаметру капілярів зменшились на 2 добу експерименту відносно контрольних показників з $5,0 \pm 0,11$ мкм до $4,4 \pm 0,20$ мкм ($p \leq 0,05$) (табл. 3). Середній діаметр венул на 2 добу спостереження був більшим за показники в контрольній групі тварин ($15,5 \pm 0,21$ мкм і $17,1 \pm 0,24$ мкм відповідно, $p \leq 0,05$). В просвіті останніх визначались явища повнокров'я, іноді — запустіння.

Відновлення значень діаметру артеріол визначено на 7 добу спостереження. Значення діаметрів капілярів на 7 добу збільшились до максимальних і сягали $7,1 \pm 0,35$ мкм ($p \leq 0,05$). Морфологічні ознаки набряку сполучної тканини в цей термін зберігались лише в глибоких шарах власної пластинки слизової оболонки дорсальної поверхні язика.

Середні діаметри капілярів і венул вірогідно від контрольних значень не відрізнялись до 14 доби після трансплантації кріоконсервованої плаценти, однак іноді спостерігались явища повнокров'я. В гемомікроциркуляторному руслі власної пластинки дорсальної поверхні язика щурів на 21 і 30 добу спостереження ознаки розладів мікроциркуляції не виявлено. При вивченні змін представництва імункомпетентних клітин в складі власної пластинки слизової оболонки дорсальної поверхні язика

Таблиця 3

Морфометричні показники елементів гемомікроциркуляторного русла після підшкірної трансплантації кріоконсервованої плаценти

	Діаметр артерійол (мкм)	Діаметр капілярів (мкм)	Діаметр венул (мкм)
Контрольна група	15,20±0,32	5,00±0,11	15,50±0,21
2 доба	14,50±0,25*	4,40±0,2*	17,10±0,24*
7 доба	14,90±0,16**	7,10±0,35*, **	16,10±0,14*, **
14 доба	15,20±0,12	4,90±0,12**	15,70±0,16**
21 доба	15,20±0,14	5,00±0,08	15,70±0,11
30 доба	15,20±0,12	5,00±0,06	15,80±0,13

Примітка: * — $p \leq 0,05$ порівняно з інтактною групою, ** — $p \leq 0,05$ порівняно з попереднім терміном спостереження.

нами визначено, що після трансплантації кріоконсервованої плаценти на 2-гу добу спостереження кількість всіх вивчених клітин вірогідно збільшилась, особливо макрофагів і плазмоцитів. Кількість лімфоцитів і тканинних базофілів на цей термін спостереження збільшилась втричі. На 7-му добу експерименту кількість лімфоцитів в полі зору відповідала значенням в контрольній групі тварин. Відновлення до контрольних значень кількості тканинних базофілів визначена на 14 добу спостереження. До 21 доби після трансплантації кріоконсервованої плаценти нами визначено відновлення кількості всіх визначених клітин до значень в контрольній групі тварин.

Висновки

Введення щурам кріоконсервованої плаценти викликає зміни у всіх структурних компонентах слизової оболонки спинки язика. Реакція епітеліальної пластинки проявляється посиленням проліферативних процесів, власної пластинки — набряком міжклітинної речовини і розширенням емнісної ланки гемомікроциркуляторного русла. У відповідь на надходження до організму антигенів у власній пластинці визначаються реактивні зміни кількості клітин лейкоцитарного ряду і тканинних базофілів. Наявність в кріоконсервованій плаценті біологічно активних речовин сприяє швидкій реалізації імунної відповіді і відновленню морфофункціонального стану слизової оболонки спинки язика до 7 доби спостереження.

Перспективи подальших досліджень

Комплексне вивчення впливу кріоконсервованої плаценти на слизову оболонку язика дозволить визначити можливості корекції патологічних станів.

Література

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Автандилов Г.Г. — Москва: Медицина, 1990. — 178 с.
2. Грищенко В. І. Фундаментальні дослідження і нові біотехнології одержання клітинних і тканинних алотрансплантатів / В.І. Грищенко // Трансплантологія. — 2003. — Т. 4, № 1. — С. 12–15.
3. Карупу В.Я. Электронная микроскопия / Карупу В.Я. — Киев: Вища школа, 1984. — 208с.
4. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. — Киев: Морион, 2000. — 320 с.
5. Шматко В.І. Захисні механізми порожнини рота / В.І. Шматко, І.М. Голубева, Н.В. Біденко // Вісник стоматології. — 1998. — №4. — С. 79–84.
6. Общие этические принципы работы с экспериментальными животными при проведении медицинских и биологических исследований / Національний конгрес з біоетики (Київ 17–20 вересня 2001 р.) // Ж. АМН України. — 2001. — Т. 7, № 4. — С. 814–816.
7. Этические вопросы использования животных в учебной работе и научных исследованиях / Тез. докл. Белорусско-британского симпозиума (16–18 окт., Минск, 1997) / Под ред. С.Д. Денисова. — Минск, 1998. — 140 с.