ПРОБЛЕМИ ЕКОЛОГІЇ ТА СОЦІАЛЬНОЇ МЕДИЦИНИ

© Іленко Н.В., Петрушанко Т.О., Ніколенко Д.Є.
УДК 616.31:616.98:578.828

АНАЛІЗ ЦИТОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ЕПІТЕЛІЮ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ОСІБ*

Іленко Н.В., Петрушанко Т.О., Ніколенко Д.Є.

ВДНЗУ «українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Проблема ВИЧ/СПИДа очень актуальна, особенно для Украины, так как в нашей стране эпидемия ВИЧ-инфекции распространяется неудержимо и имеет тенденцию к генерализации. Целью нашего исследования стала диагностика характера цитологических изменений эпителия слизистой оболочки (СО) полости рта ВИЧ-инфицированных. Было обследовано 94 ВИЧ-инфицированных возрастом 23-49 лет, которые составили группу исследования (I). В группу контроля (II) вошли 35 человек без статуса ВИЧ в возрасте 21-45 лет. Исследования проводились в течении 2011-2012 гг. После общепринятого субъективного и объективного обследования пациентов проводили цитологическое исследование мазка-соскоба с СО щеки и мазка-перепечатка с участка межзубного сосочка ВИЧ-инфицированных и не инфицированных ВИЧ пациентов. С целью анализа барьерной функции СО полости рта определяли степень ее ороговения путем вычисления индекса кератинизации (ИК). В ходе нашого исследования впервые показаны этапы морфогенеза ВИЧ-ассоциированных язвенных изменений в тканях пародонта и СО полости рта. Выявили, что у пациентов с болезнями тканей пародонта на фоне ВИЧ-инфекции нарушаются процессы десквамации эпителия, что является свидетельством снижения защитной роли СО полости рта. Кроме этого возникает компенсаторно-адаптивная гиперкератотическая перестройка эпителия, как предшественник СПИД-индикаторных состояний и проявление максимального напряжения резервных возможностей организма. Эти данные подтверждаются результатами вычисления индекса кератинизации, значения котрого возростают с прогрессированием пародонтопатологии и основного заболевания.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, заболевания тканей пародонта, цитологическая картина, индекс кератинизации.

Проблема ВІЛ/СНІДу в цілому світі є надзвичайно актуальною. При цьому Україна за темпами росту кількості ВІЛ-інфікованих розділяє лідерські позиції в Східній Європі з Естонією та Російською Федерацією [1]. Станом на 01.10.2011р. за даними офіційної статистики на диспансерному обліку в Україні перебували 115 275 ВІЛ-інфікованих осіб. Щороку діагноз ВІЛ в нашій країні вперше реєструють в середньому 20 тисяч разів. Епідемія поширюється невпинно і має тенденцію до генералізації [2].

Детальне вивчення механізмів розвитку патологічних процесів на фоні ВІЛ-інфекції та СНІДу є суттєво важливим фактором для удосконалення стратегій діагностики та лікування ВІЛ-інфікованих осіб, покращення якості їх життя, підвищення соціальної адаптації, зменшення явищ стигматизації та дискримінації людей, що мають статус ВІЛ. У діагностичному алгоритмі обстеження ВІЛ-інфікованих особливе місце посідають цитологічні методи, оскільки дозволяють неінвазивно, а, отже, безболісно та за короткий час визначити характер патологічних змін, що відбуваються в тканинах, особливості морфологічних проявів захворювань і процесів пристосування організму до дії патогенних агентів.

Метою нашого дослідження стала діагностика характеру цитологічних змін епітелію слизової оболонки (СО) порожнини рота ВІЛ-інфікованих осіб.

Матеріали та методи дослідження

Було обстежено 94 ВІЛ-інфіковані особи віком 23-49 років, що склали дослідну групу (І). До групи контролю (ІІ) увійшли 35 осіб без статусу ВІЛ віком 21-45 років. Вони не мали особливостей побутового та трудового анамнезу. Клінічне та лабораторне обстеження пацієнтів проводилося на базі Полтавського обласного Центру профілактики та боротьби зі СНІДом, Полтавської обласної клінічної стоматологічної поліклініки та кафедри патологічної анатомії з біопсійно-секційним курсом ВДНЗ України «УМСА» протягом 2011 – 2012 рр.

Після загальноприйнятого суб'єктивного та об'єктивного обстеження пацієнтів проводили цитологічне дослідження мазка-зішкряба зі СО щоки та мазка-перевідбитка з ділянки міжзубного сосочка ВІЛ-інфікованих та не інфікованих ВІЛ пацієнтів. Готували мазки на стерильному знежиреному предметному склі, висушували, забарвлювали за Романовським-

* *Цитування при атестації кадрів: Іленко Н.В., Петрушанко Т.О., Ніколенко Д.Є. Аналіз цитологічних показників епітелію слизової оболонки порожнини рота ВІЛ-інфікованих осіб // Проблеми екології і медицини. – 2013. – Т. 17, № 1-2. – С. 4 –9.*

Гімзою. Вивчали отриману цитологічну картину мазків за допомогою світлового мікроскопа фірми «Olympus BX41» з об'єктивами ×10, ×20, ×40, ×100, фотозйомку проводили цифровою камерою фірми «Olympus C3040-A DUP». З метою аналізу бар'єрної функції СО порожнини рота виявляли ступінь її зроговіння шляхом обчислення індексу кератинізації (ІК). Для цього обчислювали загальну кількість епітеліальних клітин у полі зору мікроскопа, потім кількість виявлених зроговілих клітин множили на 100 і ділили на їх загальне число. Зниження ІК свідчить про спад захисної функції слизової оболонки [3].

Результати та їх обговорення

При мікроскопічному дослідженні мазків-зішкрябів СО щоки ВІЛ-інфікованих людей, забарвлених за Романовським-Гімзою, зареєстровано, що клітинний склад матеріалу представлений поверхневими та проміжними епітеліальними клітинами. Поверхневі епітеліоцити мали гексанальну або прямокутну форму, низьке ядерно-цитоплазматичне співвідношення, темне округле або овальне ексцентрично розташоване ядро та базофільну цитоплазму (рис.1). Проміжні клітини різні за формою, частіше полігональні, більші за розміром, мали вище ядерно-цитоплазматичне співвідношення за рахунок збільшеного ядра. Останнє округлої чи овальної форми. Ці клітини мали також виражені перинуклеарно розташовані філаментозні структури (рис. 2). Рідко в деяких мазках зустрічалися округлі епітеліоцити зі слабо базофільною цитоплазмою та ексцентрично розташованим ядром, що відповідають парабазальним клітинам (рис. 3).

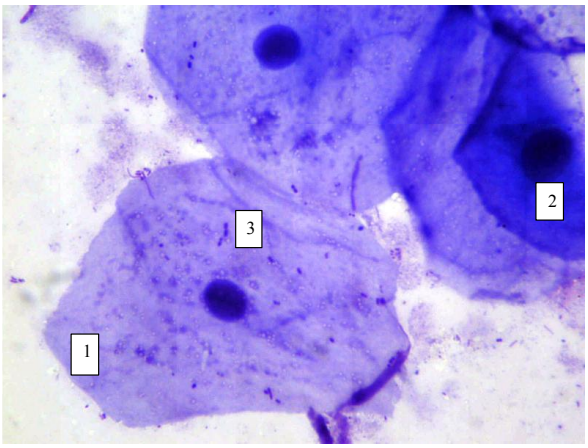

Рис.1. Зішкріб слизової оболонки щоки ВІЛ-інфікованої людини. Заб. за Романовським-Гімзою. Зб. × 1000: 1 – поверхнева клітина; 2 – проміжна клітина; 3 – поодинокі кокові бактерії.

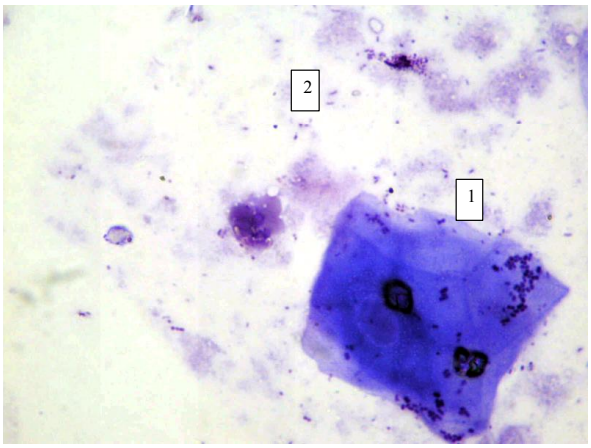

Рис.2. Зішкріб слизової оболонки щоки ВІЛ-інфікованої людини. Заб. за Романовським-Гімзою. Зб. × 1000: 1 – проміжна клітина; 2 – колонії мікроорганізмів. відповідають парабазальним клітинам (рис. 3).

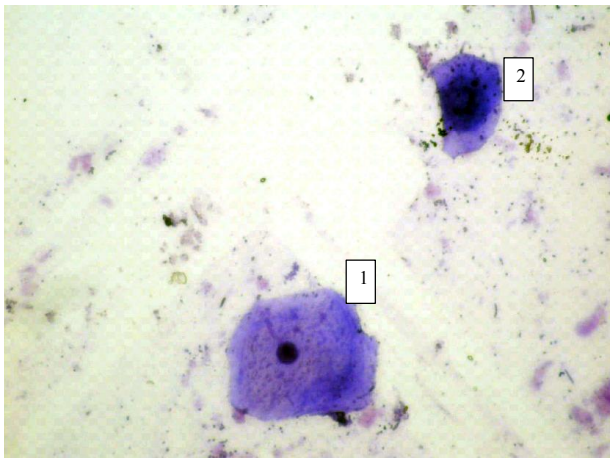

Рис.3. Зішкріб слизової оболонки щоки ВІЛ-інфікованої людини. Заб. за Романовським-Гімзою. Зб. × 200: 1 – проміжна клітина; 2 – парабазальна клітина.

Останні потрапляють в мазки тільки внаслідок глибокої травматизації епітелію під час забору матеріалу для цитологічного дослідження або ж при наявності патологічного процесу [4].

На відміну від епітелію щоки в мазках-перевідбитках із ясен осіб зі статусом ВІЛ зменшується кількість проміжних клітин, збільшується кількість поверхневих клітин і рогових лусочок. Очевидно, що такі зміни цитологічних складових пов'язані з функціональними особливостями ясен, а саме з підвищеним жувальним навантаженням. Це і обумовлює появу значної кількості рогових лусочок.

У ході проведеного дослідження нами вперше діагностований морфогенез етапів пошкоджуючого впливу мікрофлори на СО порожнини рота людини, інфікованої ВІЛ. На першому етапі в цитоплазму епітеліальних шипуватих клітин проникає ВІЛ, утворюються вірусні частинки. В місці проникнення епітеліоцити шипуватого та базального шарів реагують дистрофічними та некробіотичними змінами. Оточуючі клітини адаптивно змінюються з розвитком рогової дистрофії - гіперкератотичного процесу (рис.4).

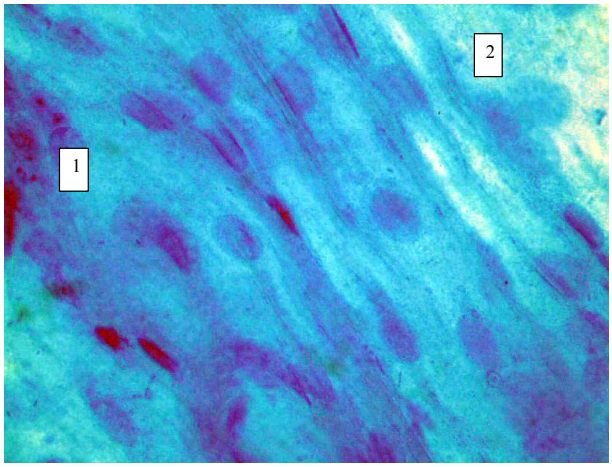

Рис.4. Мазок-перевідбиток з поверхні ясен ВІЛ-інфікованої людини. Заб. за Романовським-Гімзою. Зб. × 1000: 1 – некробіоз пара базальних клітин; 2 – явище гіперкератозу.

Реактивні зміни епітеліальних клітин на місці впливу інфекційного агенту мають запально-дистрофічний характер і проявляються у вигляді вакуольної та балонної дистрофії, а в подальшому спонгіозу. Ці патологічні процеси є ознаками порушення білково-водно-електролітного обміну, що супроводжуються змінами колоїдно-осмотичного тиску в клітині. Проникнення мікроорганізмів, переважно Грам «+», в ділянки десмосомних контактів призводить до їх руйнування. Клітини втрачають зв'язок одна з одною, округляються. Всередині епітелію формуються везикули, які швидко розкриваються з утворенням ерозивної або виразкової поверхні (рис. 5, 6). На місцях ураження визначається значна кількість лейкоцитів. У ділянках порушення цілісності епітеліального покриву виявляється в значній кількості грибкова флора, яка представлена грибками роду Candida, Aspergillus та Penicillium.

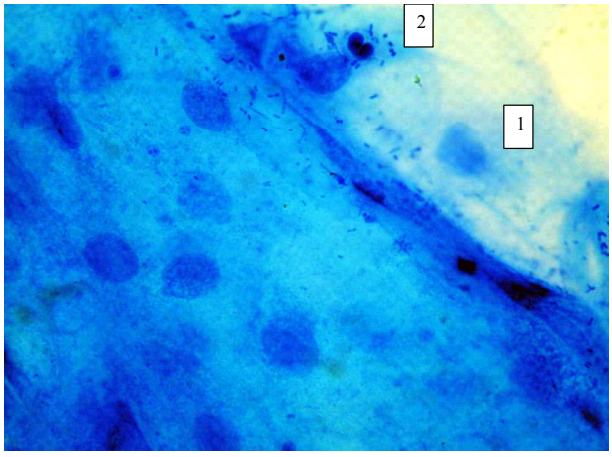

Рис.5. Мазок-перевідбиток з поверхні ясен людини з ВІЛ-асоційованим виразковим пародонтитом. Заб. за Романовським-Гімзою. Зб. × 1000: 1 – гостра ерозія; 2 – бактеріальна флора.

В порожнині рота описані цитологічні зміни відображаються клінічно у розвитку ВІЛ-асоційованих виразкових гінгівіту та пародонтиту в динаміці розвитку патологічного процесу.

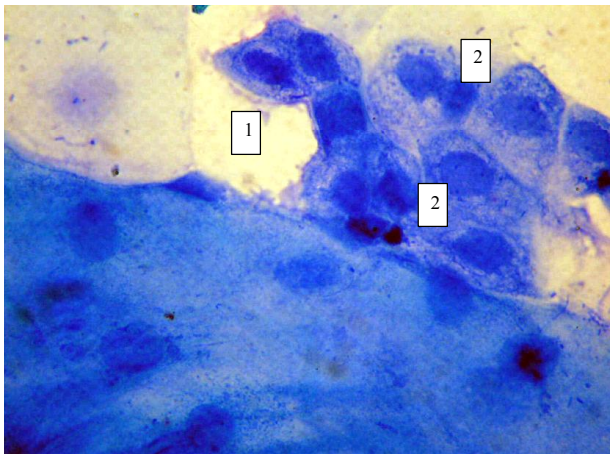

Рис.6. Мазок-перевідбиток з поверхні ясен людини з ВІЛ-асоційованим виразковим пародонтитом. Заб. за Романовським-Гімзою. Зб. × 1000: 1 – виразковий дефект; 2 – проліферація базальних та парабазальних клітин.

Результати наших досліджень узгоджуються з даними вітчизняних науковців. Так Колесова Н.В. (2002) підкреслила ряд характерних морфологічних змін, що виникають в епітелії ясен при розвитку генералізованих запально-дистрофічних процесів у тканинах пародонта: розвиток зернистої, гіаліново-крапельної та вакуольної дистрофії, пошкодження десмосомних контактів і нерівномірне розширення міжклітинних просторів та їх інфільтрація елементами мікрофлори, вогнищева альтерація і десквамація окремих клітин. При прогресуванні пародонтопатології автор вказує на поглиблення патологічних зміни епітелію ясен з розвитком дистрофічних, некробіотичних та вогнищевих некротичних змін при одночасному зростанні кількості клітин злущеного епітелію [5]. Отримані нами результати засвідчили аналогічні зміни, але зі зниженнями процесів десквамації та розвитком гіперкератотичних змін, що ми пов'язуємо з інфікуванням ВІЛ та прогресуванням імунодефіциту.

Відомо, що однією з основних функцій СО порожнини рота в цілому та ясен, зокрема, є захисна, що забезпечується завдяки бар'єрній ролі епітелію. Її обумовлюють ряд факторів: значна товщина епітеліального покриву, наявність багаточисельних міжклітинних контактів, мало проникний хімічно та механічно стійкий роговий шар, постійне злущення поверхневих шарів та швидке їх відновлення, продукція протимікробних сполук та постійне зволоження його слиною [4,6].

Для характеристики бар'єрної функції епітелію ми використовували індекс кератинізації (ІК), який дозволяє виявити ступінь зроговіння епітелію ясенних міжзубних сосочків і оцінити рівень захисної функції СО порожнини рота. У ВІЛ-інфікованих осіб ІК перевищував аналогічний показник в осіб без статусу ВІЛ майже в 1,8 рази. Зниження ІК у контрольній групі на 20% порівняно з орієнтовною нормою, на нашу думку, пояснюється наявністю у них запальних та запально-дистрофічних змін у тканинах пародонта у 82,86% спостережень. Очевидно, підвищення ІК у ВІЛ-інфікованих осіб на 40% порівняно з орієнтовною нормою при наявності пародонтопатології у 98,94% можна пояснити розвитком адаптивних гіперкератотичних змін епітелію ясен у відповідь на вплив мікрофло-

ри порожнини рота, асоційованої з ВІЛ, що узгоджується з отриманою цитологічною картиною.

Результати розрахунку ІК у ВІЛ-інфікованих та не інфікованих ВІЛ осіб наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Зміни індексу кератинізації при різному стані тканин пародонта обстежених осіб

Показник	Група дослідження	Група порівняння	p
ІК	70,51±1,45	39,4±1,45	<0,001
ІК при запальних змінах в тканинах пародонта	51,13±7,21	40,28±1,89	<0,05
ІК при запально-дистрофічних змінах в тканинах пародонта	72,27±1,35	34,87±1,94	<0,001

Примітка: p - імовірність помилки за таблицями Стьюдента.

Нами був проведений аналіз отриманих даних ІК відповідно до інтенсивності ураження тканин пародонта. Так при запальних процесах в тканинах пародонта у групі контрольній був виявлений значний розкид отриманих результатів. Результати ІК у групах ВІЛ-інфікованих осіб та осіб без статусу ВІЛ при пародонтопатологіях запального ґенезу відрізнялися недостовірно, тоді як при запально-дистрофічних змінах в тканинах пародонта у дослідній групі ІК перевищував аналогічний середній показник групи порівняння у 2 рази.

Для групи ВІЛ-інфікованих ми проводили аналіз отриманих результатів ІК відповідно до ступеню тяжкості пародонтопатології. Відповідні дані наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Зміни індексу кератинізації при різній тяжкості уражень тканин пародонта ВІЛ-інфікованих

Показник	Значення	p				
		Показник 1	Показник 2	Показник 3	Показник 4	Показник 5
1. ІК при гінгівіті	51,13±7,21		< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,01
2. ІК при генералізованому пародонтиті початкового ступеню тяжкості	67,47±3,89	< 0,05		> 0,05	> 0,05	<0,001
3. ІК при генералізованому пародонтиті I ступеню тяжкості	66,57±1,8	< 0,05	> 0,05		> 0,05	<0,01
4. ІК при генералізованому пародонтиті II ступеню тяжкості	72,04±5,45	< 0,05	> 0,05	> 0,05		> 0,05
5. ІК при генералізованому пародонтиті III ступеню тяжкості	82,35±1,71	< 0,01	< 0,001	< 0,01	< 0,05	

Примітка: p - імовірність помилки за таблицями Стьюдента між зазначеними показниками.

Виявлена тенденція до підвищення зроговіння епітелію ясен при прогресування деструктивних змін в тканинах пародонта у пацієнтів на фоні ВІЛ-інфекції.

Аналіз отриманих результатів ІК у осіб зі сттусом ВІЛ проводили також відповідно до стадії основного захворювання. Ці дані представлені в таблиці 3.

Таблиця 3

Зміни індексу кератинізації СО порожнини рота при різній стадії ВІЛ-інфекції

Показник	Значення	p			
		Показник 1	Показник 2	Показник 3	Показник 4
ІК у осіб з I стадією ВІЛ-інфекції (показник 1)	50,26±3,54		< 0,01	< 0,01	< 0,01
ІК у осіб з II стідією ВІЛ-інфекції (показник 2)	66,65±1,23	< 0,01		< 0,001	< 0,01
ІК у осіб з III стідією ВІЛ-інфекції (показник 3)	75,65±1,37	< 0,01	< 0,001		> 0,05
ІК у осіб з IV стідією ВІЛ-інфекції (показник 4)	77,4±2,34	< 0,01	< 0,01	> 0,05	

Примітка: p - імовірність помилки за таблицями Стьюдента.

Характерна також стійка тенденція до підвищення ІК з прогресуванням ВІЛ-інфекції, що вказує на розвиток гіперкератотичних процесів в яснах.

Як свідчать дані Л.А.Дмитрієвої (2001), злущення клітин плоского епітелію з мікроорганізмами в цитоплазмі є однією з захисних реакцій покривного епітелію ясен. Підвищення значень ІК розцінюється нами як показник зниження фізіологічного злущення епітелію, а значить порушення захисних функцій покривного епітелію ясен на тлі ВІЛ-інфекції.

Слід врахувати той факт, що волосиста лейкоплакія поряд з ВІЛ-асоційованим пародонтопатологіями належить до групи уражень порожнини рота, що часто пов'язані з ВІЛ згідно з класифікацією ВООЗ [7]. З іншого боку, відповідно до результатів вітчизняних дослідників [8], попередником лейкоплакічних змін СОПР є розвиток дифузних гіперкератотичних процесів та хронічного запалення. Ці дані можна співставити з результатами наших досліджень і розглядати гіперкератотичні зміни епітелія СО порожнини рота, як попередник розвитку волосистої лейкоплакії язика та кератозів СО порожнини рота.

Відомо, що стан підвищеної кератинізації розцінювався Салюк О.Д. (2004) як донозологічний або преморбідний, що виникає у відповідь на неадекватне навколишнє середовище. Він тісно пов'язаний з напруженням механізмів резервних можливостей організму і свідчить про збій в фізіологічних процесах дозрівання епітеліальних клітин та компенсаторно-адаптивну перебудову в епітеліальному пласті [9]. Гіперкератотичні зміни епітелію СО ВІЛ-інфікованих людей, на нашу думку, мають аналогічний механізм розвитку, але виникають у відповідь на вплив ВІЛ-асоційованої мікрофлори порожнини рота, в комплексі з загальносоматичними імунними змінами, стрес-

індукованими порушеннями нормально функціонування організму та психогенними депресивними змінами.

Висновки

В ході нашого дослідження вперше показані етапи морфогенеза ВІЛ-асоційованих виразкових змін в тканинах пародонта та СО порожнини рота. Виявлено, що у пацієнтів з хворобами тканин пародонта на тлі ВІЛ-інфекції порушуються процеси десквамації епітелію, що є свідченням зниження захисної ролі СО порожнини рота. Крім того виникає компенсаторно-адаптивна гіперкератотична перебудова епітелію, як попередник СНІД-індикаторних станів та прояв максимального напруження резервних можливостей організму. Ці дані підтверджуються результатами обчислення індексу кератинізації, значення якого зростає з прогресуванням пародонтопатології та основного захворювання.

Таким чином, можливості цитологічної діагностики стану тканин ротової порожнини людей зі статусом ВІЛ дозволяє об'єктивізувати патологічні та функціональні зміни СО порожнини рота в цілому та ясен зокрема при ВІЛ-інфекції. Це дозволяє підвищити ефективність ранньої об'єктивної діагностики розвитку та прогресування патологічних процесів в тканинах пародонта.

Література

1. Живиця Д.Г. Виживання хворих на ВІЛ-інфекцію протягом 3 років проведення високоактивної антиретровірусної терапії / Д.Г. Живиця // Інфекційні хвороби. - 2011.- № 3. - С. 21-26.
2. Александріна Т.А. В Україні - концентрована епідемія ВІЛ/СНІДу з тенденцією до генералізації, у черзі на отримання антиретровірусної терапії - 9037 осіб: бесіда з головою Державної служби соцзахворювань / Т.А. Александріна; записав О. Устінов // Український медичний часопис. - 2011.-№ 6. - С. 16-17.
3. Данилевський М.Ф. Захворювання слизової оболонки порожнини рота / М.Ф.Данилевський, О.Ф.Несін, Ж.І.Рахній ; За ред. М.Ф.Данилевського. – К.: Здоров'я. – 1998. – 408с.
4. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека / Быков В.Л. – СПб.: «Специальная литература», 1998. – С.19-25.
5. Колесова Н.В. Особливості альтерації і репаративної регенерації епітелію ясен при генералізованому пародонти ті та їхня фармакологічна корекція: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.01.22 «Стоматологія» / Н.В.Колесова. - Київ, 2002. – 20 с.
6. Быков В.Л. Цитология и общая гистология (функцональная морфология клеток и тканей человека) / Быков В.Л. – СПб.: СОТИС, 1998. – 516с.
7. В.Г.Бургонский Лекция: СПИД в аспекте стоматологического приема / В.Г. Бургонский // Современния стоматология. - 2002.- № 4. - С.108-112.
8. Гилева О.С. Биохимия слюны, клиника и профилактика заболеваний слизистой оболочки полости рта в условиях производственного воздействия табака: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.01.22 «Стоматология» / О.С.Гилева. - Москва, 1988. – 15с.
9. Салюк О.Д. Рання цитологічна діагностика гінгівіту. Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.01.22 «Стоматологія» / О.Д.Салюк. – Київ, 2004. – 20 с.

English version: THE ANALYSIS OF THE CYTOLOGICAL PARAMETERS OF THE ORAL MUCOUS MEMBRANE EPITHELIUM IN HIV-POSITIVE PATIENTS*

Ilenko N.V., Petrushanko T.O., Nikolenko D.E.

Higher State educational if Ukraine "Ukrainian Medical Dental Academy", Poltava

The problem of HIV/AIDS is extremely burning worldwide. Especially for Ukraine, where this epidemic is spreading steadily and has a tendency to generalization. The aim of our study was the diagnosis of the cytological changes in the oral mucous membrane (OMM) epithelium in HIV-positive patients. Materials and methods. 94 HIV-patients aged 23-49 were examined. They formed the studied group (I). 35 people with HIV status-negative aged 21-45 entered the control group (II). This research work was conducted during 2011 – 2012. After general subjective and objective examination of patients both HIV-positive and HIV-negative, there was performed mucous membrane cytosmear scraping of the cheek and smear-reprint from interdental papilla of each patient. To analyze the barrier function of OMM its degree of keratinization was revealed with the help of the keratinization index (KI). Results. During our study the stages of morphogenesis HIV-associated ulcerative changes in the periodontal tissues and OMM were firstly showed. We found that epithelial desquamation disrupts in patients with periodontal diseases and HIV-infection, which is a testament of the protective role reduce of OMM. In addition there is a compensatory-adaptive hyperkeratotnic alteration of the epithelium, as a precursor to AIDS-indicator conditions and display of maximum stress reserve of the organism. These data are confirmed by the results of the of keratinization index calculation. Its value increases along with the progression of the underlying disease and periodontal diseases.

Key words: HIV-infection, periodontal diseases, cytological picture, keratinization index

The problem of HIV/AIDS is extremely burning worldwide. Herewith Ukraine, together with Estonia and the Russian Federation, has the leadership in Eastern Europe in terms of growth in the number of HIV-infected people [1]. According to the official statistics as 01.10.2011 115,275 HIV-positive patients had regular medical check-up in Ukraine. Every year the HIV-infection is diagnosed firstly on average in 20,000 times in our country. This epidemic is spreading steadily and has a tendency to generalization [2].

A detailed study of pathogenesis associated with HIV-infection and AIDS is an essential factor for improving the

* *To cite this English version: Ilenko N.V., Petrushanko T.O., Nikolenko D.E. The analysis of the cytological parameters of the oral mucous membrane epithelium in HIV-positive patients / / Problemy ekologii ta medytsyny. - 2013. - Vol 17, № 1-2. - P. 9 -7.*

diagnostic and treatment strategies of HIV-positive people, for making their quality of life better, for increasing their social adaptation and reducing stigma and discrimination against people with HIV status. The cytological methods have a special place in the diagnostic algorithm of HIV-patients examination. As they allow non-aggressively in other words safely and in a short time to determine the nature of pathological changes occurring in tissues, the traits of morphological manifestations of diseases and the adaptation processes of the organism to the action of pathogenic agents.

The aim of our study was the diagnosis of the cytological changes in the oral mucous membrane (OMM) epithelium in HIV-positive patients.

Materials and methods

94 HIV-patients aged 23-49 were examined. They formed the studied group (I). 35 people with HIV status-negative aged 21-45 entered the control group (II). They didn't have any peculiarities of household and employment anamnesis. Clinical and laboratory examination of patients was conducted in Poltava Regional Center for AIDS Prevention and Control, Poltava Regional Dental Out-Patient Hospital and the Department of Pathology of the biopsy-sectional course HMEI of Ukraine "UMSA" during 2011 – 2012.

After general subjective and objective examination of patients both HIV-positive and HIV-negative, there was performed mucous membrane cytosmear scraping of the cheek and smear-reprint from interdental papilla of each patient. Smears were prepared on sterile skim slide, dried and Giemsa stained. Obtained cytological smears were studied using Olympus BX41 light microscope with objectives × 10, × 20, × 40, × 100, and pictured with an Olympus S3040-A DUP digital camera. To analyze the barrier function of OMM its degree of keratinization was revealed with the help of the keratinization index (KI). The total number of epithelial cells seen in the microscope field of view was counted, then the number of keratinizing cells were multiplied by 100 and divided by the total number of cells. Reducing of KI shows a decline of mucous membrane protective function [3].

Results and discussions

Microscopic examination of mucous membrane smear scraping taken from the cheek of HIV-positive patients and Giemsa stained reported that the cellular composition of the material is presented by superficial and intermediate epithelial cells. Superficial epithelial cells had a hexangular or rectangular shape, low nuclear-cytoplasmic ratio, dark rounded or oval eccentric nucleus and basophilic cytoplasm (Fig. 1). Intermediate cells were different in shape, often polygonal, larger in size, had higher nuclear-cytoplasmic ratio due to an increased nuclear. The latter ones had a round or oval form. These cells also had evident perinuclear filamentary structures (Fig. 2). Rarely some smears contained rounded epithelial cells with weak basophilic cytoplasm and eccentric nucleus that correspond to parabasal cells (Fig. 3).

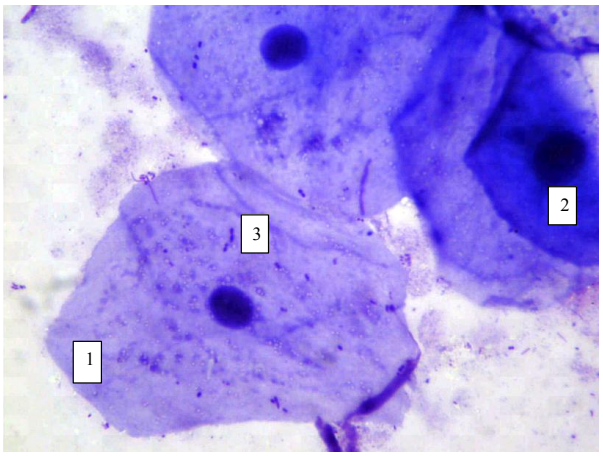

Figure 1. Mucous membrane scraping the cheeks taken from an HIV-positive person. Giemsa stained. Enlarged × 1000: 1 – superficial cell; 2 - intermediate cell; 3 - single coccus bacteria.

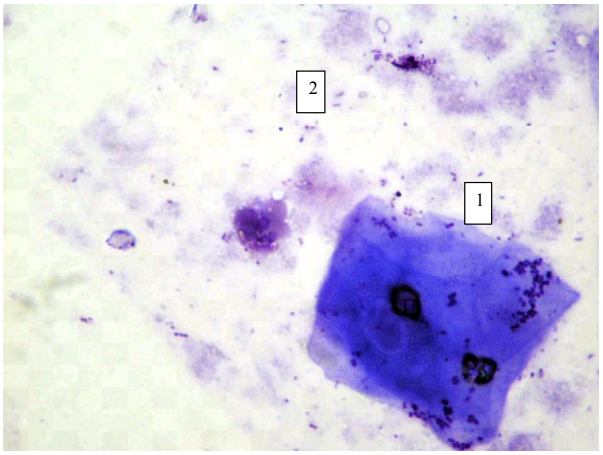

Fig.2. Mucous membrane scraping the cheeks taken from an HIV-positive person. Giemsa stained. Enlarged × 1000: 1 - intermediate cell; 2 - colonies of microorganisms.

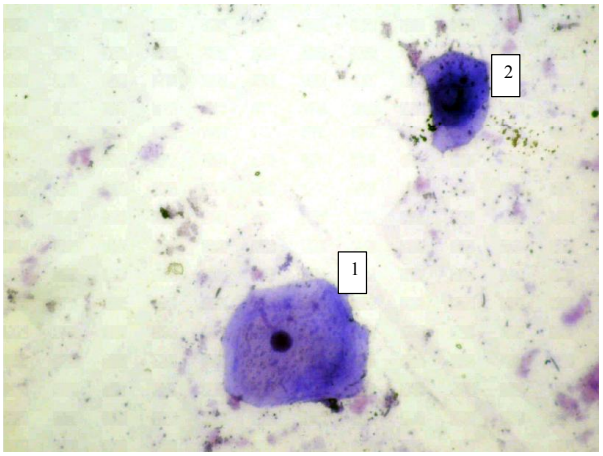

Fig.3. Mucous membrane scraping the cheeks taken from an HIV-positive person. Giemsa stained. Enlarged × 200: 1 - intermediate cells; 2 - parabasal cells.

Parabasal cells get into the smears either of the deep epithelial trauma during collection of material for cytological examination, or the presence of pathological process [4].

Unlike cheek epithelium smears-reprints from the gingivae of HIV-positive patients contain less intermediate cells, but more surface cells and horny scales. Obviously, these changes of cytological components are connected

with gingival functional features, like increased chewing workload. This causes the appearance of a large number of horny scales.

During our research we firstly diagnosed the morphogenesis of stages of micro flora damaging effects on the OMM in HIV-patients. On the first stage HIV enters the cytoplasm of epithelial cells, HIV viral particles are formed. At the place of penetration, cells of spinous and basal epithelial layers react with dystrophic and necrobiotic changes. The surrounding cells are changing adaptively with the development of cornea dystrophy – hyperkeratoric process (Fig. 4).

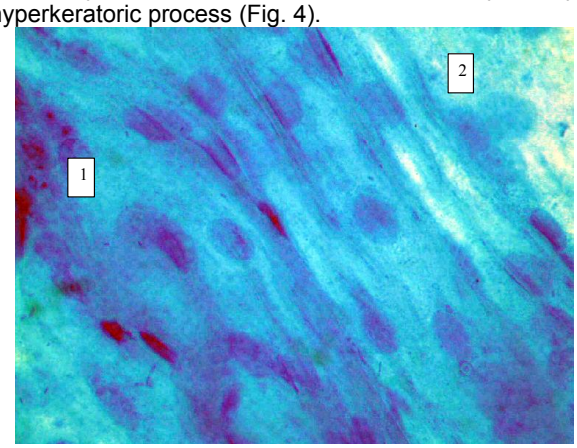

Figure 4. Smear-reprint from the gingival surface of the gums HIV-patients. Giemsa stained. Enlarged × 1000:
1 – necrobiosis of parabasal cells; 2 - a phenomenon of hyperkeratosis.

Reactive changes of epithelial cells in the place of HIV penetration have an inflammatory-dystrophic nature and manifest themselves as hydropic and balloon degeneration and spongiosis later on in the future. These pathological processes are the signs of wrongdoing protein-water-electrolyte metabolism, accompanied by changes in colloid-osmotic pressure in the cell. Penetration of microorganisms, mainly Gram "+", in the section desmosome contacts leads to their destruction. The cells lose contact with each another and become rounded. The vesicles, forming inside the epithelium, quickly disclose with the formation of ulcer or erosive surface (Fig. 5, 6). At the local of lesion a significant number of white blood cells are determined. There are a large number of fungal flora, represented by Candida, Aspergillus and Penicillium, in the broken integrity areas of the epithelial sheet.

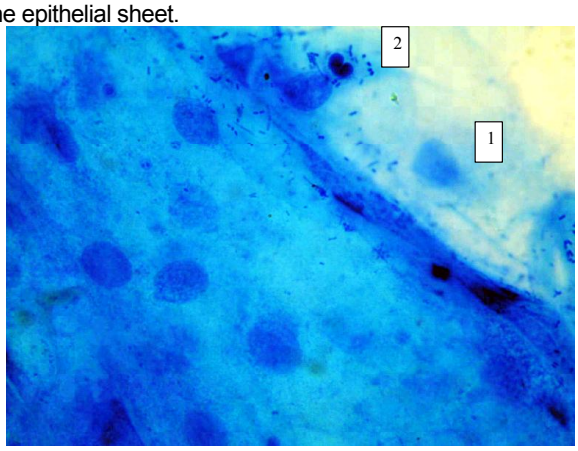

Figure 5. Smear-reprint from gingival surface of the person with HIV-associated ulcerative periodontitis. Giemsa stained. Enlarged × 1000:
1 - severe erosion; 2 - bacterial flora.

In the oral cavity the described cytological changes are reflected clinically in the development of HIV-associated ulcerative gingivitis and periodontitis in the dynamics of the pathological process.

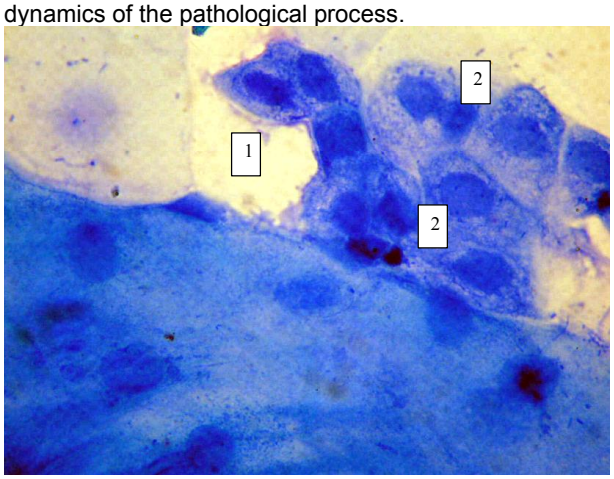

Figure 6. Smear-reprint from gingival surface of the person with HIV-associated ulcerative periodontitis. Giemsa stained. Enlarged × 1000:
1 - ulcerative defect; 2 - proliferation of basal and parabasal cells.

Our results are agreed with the data provided by national scientists. So Kolesova N.V. (2002) mentioned a number of specific morphological changes that occur in the gingival epithelium due to the development of generalized inflammatory and degenerative processes in periodontal tissues. These include the development of granular, hyaline-drop and hydropic degeneration, damage the desmosome contacts and uneven expansion of intercellular spaces, their infiltration by elements of micro flora, focal alteration and desquamation of individual cells. The author points to the deepening of pathological changes in gingival epithelium with the progression of periodontal diseases. Dystrophic, necrobiotic and focal necrotic changes are developing while a number of desquamated epithelial cells are increasing at the same time [5]. Our results showed the similar changes, but with decreasing of desquamation processes and developing hyperkeratotric changes that we associate with HIV infection and immunodeficiency progression.

It is known that one of the major function of OMM as a whole and the gums, in particular, is protection, which is provided by the barrier role of epithelium. It is stipulated by a number of factors: large epithelial layer thickness, the presence of numerous intercellular contacts, bad permeable chemically and mechanically stable corneous layer, constant exfoliation of surface layers and their rapid recovery, production of antimicrobial compounds and continuous wetting it with saliva [4,6].

To characterize the epithelial barrier function, we used the keratinization index (KI), which reveals the degree of keratinization of the gingival interdental papillae epithelium and assesses the level of the protective function of OMM. In HIV-infected persons KI exceeded that in patients without HIV status almost in 1.8 times. It was revealed the reducing of KI in the control group by 20% compared to the estimated rate. In our opinion, it is due to the fact that these patients have inflammatory and inflammatory-dystrophic changes in periodontal tissue in 82.86% of cases. The periodontal diseases in HIV-infected individuals have been diagnosed in 98.94% of cases. Obviously, the increasing of KI in HIV-patients by 40% compared with an estimated rate can be attributed

to the development of adaptive hyperkeratonic changes of gingival epithelium in response to the impact of oral micro flora associated with HIV. It is agreed with obtained cytological picture.

Results of calculation of KI in HIV-positive and HIV-negative individuals are shown in Table 1.

Table 1

Changes of keratinization index at different condition of periodontal tissues of examined individuals

Parameter	Studied group (I)	Control group (II)	p
KI	70,51±1,45	39,4±1,45	<0,001
KI in presence of inflammatory changes in the periodontal tissues	51,13±7,21	40,28±1,89	<0,05
KI in presence of inflammatory-dystrophic changes in the periodontal tissues	72,27±1,35	34,87±1,94	<0,001

Note: p - the probability of error according to Student's tables.

We analyzed the KI data according to the intensity of periodontal lesions. Thus the significant variation in the results was found in the presence of inflammatory processes in periodontal tissues in the control group. The results of KI in HIV-patients and people without HIV status in presence of inflammatory periodontal diseases differed unreliable. Whereas, in presence of inflammatory-dystrophic changes in the periodontal tissues, KI in the experimental group exceeded the average parameter in control group in 2 times.

For a group of HIV-patients we conducted an analysis of the KI results according to severity of periodontal diseases. The relevant data are given in Table 2.

Table 2

Changes of keratinization index in HIV-patients with different severity of periodontal lesions

Parameter	Value	p				
		Index 1	Index 2	Index 3	Index 4	Index 5
1. KI in presence of gingivitis	51,13±7,21		< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,01
2. KI in presence of general periodontitis initial stage	67,47±3,89	< 0,05		> 0,05	> 0,05	<0,001
3. KI in presence of general periodontitis I stage	66,57±1,8	< 0,05	> 0,05		> 0,05	<0,01
4. KI in presence of general periodontitis II stage	72,04±5,45	< 0,05	> 0,05	> 0,05		> 0,05
5. KI in presence of general periodontitis III stage	82,35±1,71	< 0,01	< 0,001	< 0,01	< 0,05	

Note: p - the probability of error between given parameters according to Student's tables .

It was revealed the tendency to an increase in the intensity of keratinization of gingival epithelium in the progression of destructive changes in periodontal tissues in HIV-patients.

Analysis of the KI results in HIV-patients conducted in accordance with the stage of the underlying disease. These data are presented in Table 3.

Table 3

Change the keratinization index of OMM at different stages of HIV infection

Parameter	Value	p			
		Index 1	Index 2	Index 3	Index 4
KI in patients with I stage of HIV-infection (index 1)	50,26±3,54		< 0,01	< 0,01	< 0,01
KI in patients with II stage of HIV-infection (index 2)	66,65±1,23	< 0,01		< 0,001	< 0,01
KI in patients with III stage of HIV-infection (index 3)	75,65±1,37	< 0,01	< 0,001		> 0,05
KI in patients with IV stage of HIV-infection (index 4)	77,4±2,34	< 0,01	< 0,01	> 0,05	

Note: p - the probability of error according to Student's tables.

A steady tendency to increasing the KI with progression of HIV infection is typical. It indicates the development of hyperkeratonic processes in the gums.

According to the data by L.A.Dmytriyevoyi (2001), exfoliation squamous cells with microorganisms in the cytoplasm is one of the protective reactions of surface gums epithelium. Increasing the KI is regarded by us as an indicator of reducing physiological desquamation of the epithelium, and thus a violation of the protective functions of surface epithelium gums in HIV-patients.

It is necessary to consider the fact that hairy leukokeratosis, together with HIV-associated periodontal diseases belongs to a group of oral lesions that are often associated with HIV-infection according to WHO classification [7]. On the other hand, according to the results of native researchers [8], the precursor of leukoma mucous membrane changes is the development of diffuse hyperkeratonic processes and chronic inflammation. These data can be compared with the results of our research and consider hyperkeratonic changes of OMM epithelium, as a precursor to the development of hairy leukokeratosis of the tongue and oral keratosis.

It is known that a state of increasing keratinization is seen by Salukis O.D. (2004) as a premorbid state that occurs in response to an inappropriate environment. It is closely related to the mechanisms of stress reserve of the organism and indicates failure in the physiological processes of maturation of epithelial cells and adaptive compensatory adjustment in the epithelial layer [9]. In our opinion, hyperkeratonic changes of OMM epithelium in HIV-infected people have a similar mechanism of development, but occur in response to the impact of HIV-

associated oral micro flora, together with somatic immune changes, stress-induced disruption of normal functioning of the body and psychogenic depressive changes.

Conclusions

During our study the stages of morphogenesis HIV-associated ulcerative changes in the periodontal tissues and OMM were firstly showed. We found that epithelial desquamation disrupts in patients with periodontal diseases and HIV-infection, which is a testament of the protective role reduce of OMM. In addition there is a compensatory-adaptive hyperkeratotnic alteration of the epithelium, as a precursor to AIDS-indicator conditions and display of maximum stress reserve of the organism. These data are confirmed by the results of the of keratinization index calculation. Its value increases along with the progression of the underlying disease and periodontal diseases.

Thus, the possibility of cytological diagnosis of oral tissues of people with HIV status can objectify pathological and functional changes in OMM in general and gums in particular. It helps to improve the efficiency of early objective diagnosis of pathological processes progression in periodontal tissues.

References

1. Zhivizya D.G. Vizhivannya chvorich na VIL-infekziyu protyagom 3 rokiv provedennya visokoaktivnoï antiretrovirusnoï terapiï / D.G. Zhivizya // Infekziyni chvorobi. - 2011.- № 3. - C. 21-26.
2. Aleksandrina T.A. V Ukraïni - konzentrovana epidemiya VIL/SNIDu z tendenzieyu do generalizaziï, u cherzi na otrimannya antiretrovirusnoï terapiï - 9037 osib: besida z golovoyu Derzhavnoï sluzhbi sozzachvoryuvan' / T.A. Aleksandrina; zapisav O. Ustinov // Ukraïns'kiy medichniy chasopis. - 2011.-№ 6. - C. 16-17.
3. Danilevs'kiy M.F. Zachvoryuvannya slizovoï obolonki porozhnini rota / M.F.Danilevs'kiy, O.F.Nesin, Zh.I.Rachniy ; Za red. M.F.Danilevs'kogo. – K.: Zdorov'ya. – 1998. – 408s.
4. Bykov V.L. Gistologiya i embriologiya organov polosti rta cheloveka / Bykov V.L. – SPb.: «Spezial'naya literatura», 1998. – S.19-25.
5. Kolesova N.V. Osoblivosti al'teraziï i reparativnoï regeneraziï epiteliyu yasen pri generalizovanomu parodonti ti ta ïchnya farmakologichna korekziya: avtoref. dis. na zdobuttya nauk. stupenya kand. med. nauk : spez. 14.01.22 «Stomatologiya» / N.V.Kolesova. - Kiïv, 2002. – 20 s.
6. Bykov V.L. Zitologiya i obschaya gistologiya (funkzonal'naya morfologiya kletok i tkaney cheloveka) / Bykov V.L. – SPb.: SOTIS, 1998. – 516s.
7. V.G.Burgonskiy Lekziya: SPID v aspekte stomatologicheskogo priema / V.G. Burgonskiy // Sovremennya stomatologiya. - 2002.- № 4. - C.108-112.
8. Gileva O.S. Biochimiya slyuny, klinika i profilaktika zabolevaniy slizistoy obolochki polosti rta v usloviyach proizvodstvennogo vozdeystviya tabaka: avtoref. dis. na zdobuttya nauk. stupenya kand. med. nauk : spez. 14.01.22 «Stomatologiya» / O.S.Gileva. - Moskva, 1988. – 15s.
9. Salyuk O.D. Rannya zitologichna diagnostika gingivitu. Avtoref. dis. na zdobuttya nauk. stupenya kand. med. nauk : spez. 14.01.22 «Stomatologiya» / O.D.Salyuk. – Kiïv, 2004. – 20 s.

Матеріал надійшов до редакції 26.03.2013 р.