

Zavod za parodontologiju
 Stomatološkog fakulteta, Zagreb
 predstojnik Zavoda prof. dr. sci. dr. J. Aurer-Koželj

Eksfolijativno citološka ispitivanja epitela usne šupljine, s osobitim osvrtom na gingivu

J. AURER-KOŽELJ

Višeslojni pločasti epitel usne šupljine podvrgnut je neprestanom procesu eksfolijacije. Ovaj proces ovisi o mitotičkoj aktivnosti bazalnog sloja epitelnih stanica, o enzimskim procesima u epitelnim stanicama i o djelovanju mehaničkih iritacija u pojedinim područjima površinskog epitela usne šupljine (Bertalanffy², 1963. i 1964).

Prva citomorfološka ispitivanja epitelnih stanica usne šupljine vršili su u prošlom stoljeću Miller³ (1889), Schulze⁴ (1867) i Ebner⁵ (1902). Jak poticaj oralnoj citodijagnostici dao je Papanicolaou⁶ (1933), vodeći citološka ispitivanja u ginekologiji. Uzevši u obzir specifičnost tkiva usne šupljine, klasifikacija stanica po Papanicolaou⁷ (1954), u potpunosti vrijedi i za ovo područje.

Oralno eksfolijativna citologija ima osobitu vrijednost za rano dijagnosticiranje malignih procesa u usnoj šupljini (Schneider⁸ 1952, Fasske i Hahn⁹ 1958. i 1961, Sandler¹¹ 1964). Citološka ispitivanja su veoma važna i u određivanju inflamatornih i benignih procesa pojedinih područja sluznice usne šupljine (Streicher i Sandkuhler¹² 1953, Schroeder¹³ 1959, Hahn i Lange¹⁴ 1967, Silverman¹⁵ 1965, Aurer¹⁶ 1965).

Prva citološka ispitivanja gingive vršio je Weinmann¹⁷ 1940. god. Uočio je da eksfolirane stanice gingive pripadaju superficijalnom sloju epitela. Potpuno keratinizirane stanice bile su znatno češće u razmazima gingive, nego u razmazima bukalne sluznice. Ove su stanice nepravilne, poligonalne i transparentne, a veličina im je do 30 μ m.

Streicher i Sandkuhler¹², 1953. god, opisuju kromatinsku strukturu jezgre sličnu mrežici, koja prilikom keratinizacije postaje sve gušća. Sandler¹⁸ (1963) i Blanden¹⁹ (1963) izvještavaju o citoplazmatskim granulama, koje pri maturaciji postaju sve uočljivije. Prema Weinmannu i Meyeru²⁰ (1960), to su keratohijaline granule, koje, kako izvještava Blanden²¹ (1965), kvantitativno određuju stupanj keratinizacije.

Kasnija oralnocitološka ispitivanja se najčešće bave promjenama epitela usne šupljine i gingive, koje nastaju zbog hormonskih utjecaja ili zbog djelovanja faktora upale.

Iako se utjecaj estrogena na proliferaciju i maturaciju epitelnih stanica u eksperimentu može dokazati (Bern²², 1957), rezultati citoloških ispitivanja o djelovanju spolnih hormona na epitel usne šupljine i gingive su oprečni. Montgomery²³ (1951), Trotter²⁴ (1958), Jacobs²⁵ (1959) i Silverman²⁶ (1966) ne nalaze povezanost između djelovanja hormona u vrijeme pojedinih faza menstruacijskog ciklusa žena i promjena na epitelu usne šupljine. Andermat²⁷ (1950) i Mühlemann²⁸ (1952) pak izvještavaju, da postoji hormonsko ciklički uvjetovana deskvamacija epitela gingive u vrijeme folikulinske faze.

Tammoscheit (1962) smatra da je graviditetni estrogen odgovoran za hiperplaziju gingive u trudnica. Jusem²⁹ (1950), Schoeldgen³⁰ (1955), Zitka³¹ (1960), Witt³² (1961), Main³⁰ (1967) i mnogi drugi smatraju, da je hormonski utjecaj na epitel usne šupljine očit, samo što je u ovom području veoma izraženo i djelovanje egzogenih faktora.

Citološke promjene koje nastaju pri oboljenjima oralne mukoze i gingive ispitivali su Smolka i Soost³⁴ (1965). Inflamacija gingive je u odraslih veoma česta. Epitelne stanice tada, neovisno o stupanju diferencijacije, pokazuju odstupanja u veličini i obliku (Aurer³⁵ 1964, Lange³⁶ 1966). Usporedo sa citološkim promjenama koje nastaju u vrijeme upale, dolazi i do smanjene keratinizacije (Mühlemann³⁷ 1952, Aurer³⁶ 1965), tako da promjene u indeksu keratinizacije mogu poslužiti u dijagnostici oboljenja parodonta (Lange³⁶ 1960, 1965, Kurte³⁸ 1962).

VLASTITA ISPITIVANJA

Eksfolijativna citologija se bavi istraživanjem eksfoliranih stanica epitela i pruža mogućnost uočavanja povezanosti građe i funkcije pojedinih vrsti tkiva. Tako povezujući morfološka i fiziološka proučavanja, možemo uočiti reakcije organizma, koje se ispoljavaju na površinskom epitelu usne šupljine i gingive.

Stoga je cilj ovih istraživanja da se uoče razlike morfoloških karakteristika epitela pojedinih regija zdrave i upalno promijenjene gingive, kako bi se mogli bolje razumjeti fiziološki i patološki procesi koji nastaju u ovom području.

METODA RADA

Za uzimanje citoloških razmaza pojedinih regija gingive, odabrano je 40 dječaka u dobi od 10 do 14 godina. Polovica ispitanika je imala zdravu gingivu, a druga polovica upalno promijenjenu. Razmazi su uzimani s pomične i nepomične gingive, u području premolara gornje i donje čeljusti. Tupom metalnom špatlom se lagano ostrugalo određeno područje gingive. Dobiveni materijal se razmazao na predmetno stakalce i stavio u sredstvo za fiksiranje, koje se sastojalo

iz jednakih dijelova 95% etonola i etera. Preparati su fiksirani 1 sat, a zatim obojeni prema modificiranoj metodi P a p a n i c o l a o u a⁷ (1954). Za ovo bojenje upotrijebljene su originalne boje »K e m i k a«, koje su se sastojale iz H a r r i s hematoxylin solucije, orange G6 solucije i polychromat EA65 solucije.

Interpretacija razmaza

Citološka klasifikacija stupnjeva zrelosti oboljenja se procjenjivala na temelju polikromatskog bojenja i morfologije celularnih detalja. Promjene boje citoplazme i izgleda jezgre, označivale su stupanj orožjenja stanica (S t r e i c h e r, S a n d k u h l e r¹² 1953). Nekeratinizirane bazalne stanice potječu iz stratuma bazale, okrugle su i imaju veliku jezgru. Citoplazma im formira uski rub i boji se cijanofilno: zeleno i plavo. Prekeratinizirane stanice, koje se nalaze u intermedijarnoj maturaciji, potječu iz stratuma spinozuma. Neznatno su sploštene i pokazuju izvjestan stupanj nuklearne kontrakcije. Cijanofilna protoplazma je nešto svijetlija i transparentna. Dozrijevanjem stanice postaju plosnate, a nukleus se kontrahira na malu piknotičku masu kromatina, koja u stadiju potpune keratinizacije sasvim iščezne. Keratinizirana citoplazma je eozinofilna — boji se ružičasto, narančasto ili žuto.

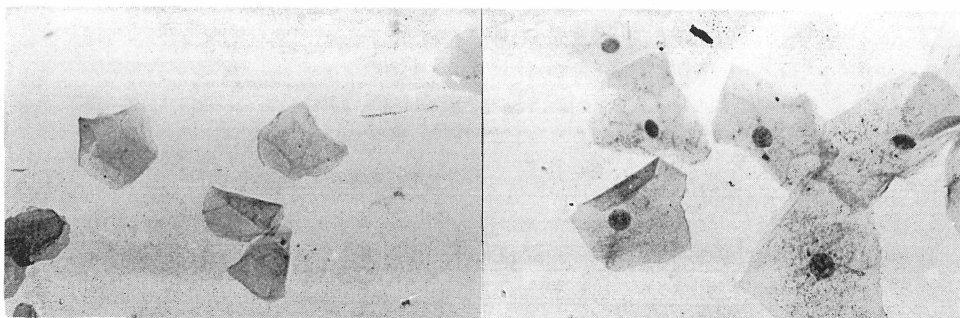
Mikroskopsko povećanje pri analizi citoloških preparata, iznosilo je 400 puta.

REZULTATI

Citomorfološke karakteristike epitelnih stanica slobodne i srasle gingive:

A) Epitelne stanice zdrave gingive

Površinske epitelne stanice slobodne i srasle gingive u vrlo visokom postotku dostižu stupanj potpune keratinizacije. One su male (sl. 1), oštro ograničene, četvrtaste i često zavinute na rubovima. Citoplazma im je transparentna i boji se eozinofilno — ružičasto ili žuto. Citoplazmatske granule su uočljive. Jezgra



Sl. 1. Potpuno keratinizirane stanice vanjskog epitela zdrave gingive. — Sl. 2. Nepotpuno keratinizirane stanice vanjskog epitela zdrave gingive.

im je iščezla, ili se kontrahirala u malu priknotičku masu kromatina. Prema izgledu, ove su stanice slične keratiniziranim stanicama tvrdog nepca, a znatno se razlikuju od stanica ostalih regija usne šupljine.

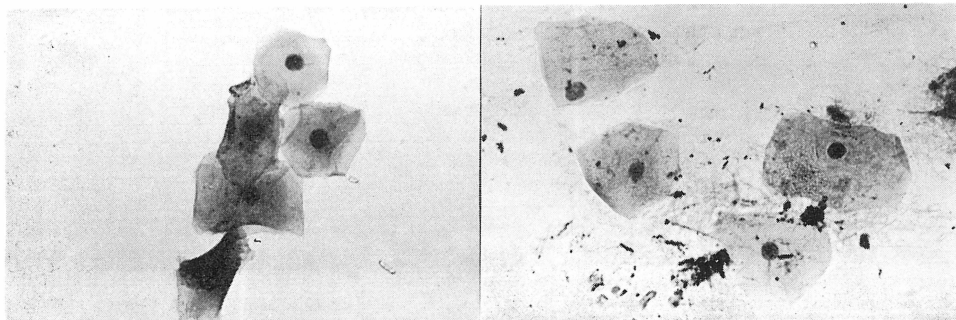
Preostali mali broj stanica (sl. 2) slobodne i srasle gingive, koja nije patološki promijenjena, nalazi se u fazi nepotpune keratinizacije. Ove su stanice veće od potpuno keratiniziranih stanica gingive, a morfološki odgovaraju stanicama dubljih slojeva epitela gingive. Neznatno su sploštene. Jezgra im pokazuje izvjestan stupanj nuklearne kontrakcije. Citoplazma je transparentna i boji se narančasto ili crveno.

Stanice vanjskog epitela zdrave gingive slobodne su od bakterija. Leukocita u ovim razmazima nema.

Stupanj maturacije površinskih epitelnih stanica pojedinih anatomskih regija vanjskog epitela zdrave gingive pokazuju male razlike. One su toliko male, da ih možemo i zanemariti.

B) Epitelne stanice upalno promijenjene gingive

Površinske epitelne stanice slobodne i srasle gingive, koja je upalno promijenjena, ne dostižu stupanj zrelosti površinskih epitelnih stanica zdrave gingive (sl. 3). One su okrugle ili ovalne. Veće su od epitelnih stanica zdrave gingive. Po svom su izgledu slične epitelnim stanicama bukalne sluznice, koje ne dostižu stupanj potpune keratinizacije. Jezgra im je jasno izražena i ne pokazuje znakova piknoze. Često se dadu uočiti perinuklearni prostori.



3

4

Sl. 3. Nekeratinizirane površinske epitelne stanice vanjskog epitela upalno promijenjene gingive. —
Sl. 4. Nekeratinizirane stanice vanjskog epitela inflamirane gingive, s bakterijama i detritusom.

Citoplazma se boji eozinofilno — crveno i narančasto. Napredovanjem upalnog procesa, keratinizacija je slabija, a citoplazma se boji bazofilno — plavo ili zeleno. Uočljiva je i citoplazmatska vakuolizacija. Na preparatima upalno promijenjene gingive (sl. 4), mogu se uočiti brojne bakterije, detritus i po koji leukocit.

Stupanj keratinizacije epitelnih stanica pojedinih anatomskih regija vanjskog epitela upalno promijenjene gingive, pokazuje veoma male razlike. One su toliko male, da ih ne možemo smatrati značajnima.

DISKUSIJA

Iz ovih promatranja proizlazi da postoji razlika u stanju keratinizacije vanjskog epitela zdrave i upalno promijenjene gingive. Epitelne stanice zdrave gingive u procesu maturacije, u velikom broju dostižu stupanj potpune keratinizacije. Taj je nalaz u skladu s citološkim ispitivanjima Sobermana i Stahla, te histološkim nalazima Gotlieba i Orbana, koji površinski keratinski sloj epitelnih stanica bez nukleusa, smatraju karakterističnim za strukturu normalne gingive.

Ovi rezultati, međutim, nisu u skladu s rezultatima citoloških ispitivanja vanjskog epitela gingive, koja su vršili Silverman,¹⁵ Beck i Farber. Oni smatraju da površinske stanice gingive dostižu intermedijarnu maturaciju, kao i stanice obraza. Oni nisu u skladu ni s histološkim ispitivanjima Webera, Bottlera i Blooma, koji prekeratinizaciju smatraju fiziološkim svojstvom cijele mukozne membrane usne šupljine pa tako i gingive.

Maturacija epitelnih stanica upalno promijenjene gingive se zaustavlja u intermedijarnoj fazi dozrijevanja. Ova činjenica ide u prilog mišljenju Ziskina, Kamena i Kittaya, koji smanjenu keratinizaciju dovode u vezu s procesom inflamacije. Oni navode da je broj leukocita u oralnom razmazu to veći, što je stupanj keratinizacije niži. Wolpe također govori o obilnoj leukocitnoj infiltraciji gingive, kad je slabo izražena keratinizacija pokrovnog epitela, i slabijoj leukocitnoj infiltraciji, kad je izražena keratinizacija. Oni, dakle, ističu zaštitnu ulogu keratinskog sloja gingive, kojeg manjkavost dovodi do angažiranja nespecifičnih faktora obrane, koji tada nastoje preuzeti funkciju protektivnog sloja epitela.

Sažetak

Da bismo što bolje odredili stupanj maturacije površinskog epitela pojedinih regija sluznice usne šupljine pa tako i gingive, služimo se eksfolijativnom citologijom. Tehnika površinskog razmaza vrlo je podесna, jer polikromatskim bojadisanjem celularnih detalja omogućavamo morfološko diferenciranje i određivanje zrelosti svake stanice posebno.

Podaci iz literature o diferenciranju endocelularne morfološke strukture pojedinih regija epitela zdrave i patološki promijenjene gingive često su oprečni. Vjerojatno je tomu uzrok utjecaj različitih funkcijskih podražaja i nedovoljno poznavanje faktora koji dovode do promjene u epitelu gingive i tako stvaraju podlogu za patološke procese u parodontu.

Eksfolijativno citološka ispitivanja površinskog epitela zdrave i patološki promijenjene gingive, prikazana u ovom radu, prilog su uočavanju povezanosti endocelularne strukture epitela gingive i funkcijskih manifestacija parodontija.

Summary

EXFOLIATIVE CYTOLOGY OF THE EPITHELIUM IN THE ORAL CAVITY WITH SPECIAL ACCENT ON THE GINGIVA

In order to determine in the best possible way the degree of maturation of the superficial epithelium in individual regions of the oral mucosa and thus of the gingiva, exfoliative cytology is often used. The technique of the superficial smear is very suitable because the polychromatic staining of the ce-

llular details enables us to make the morphological differentiation and determination of the maturity of each cell separately.

Data from the literature on the differentiation of the endocellular morphological structure of individual epithelial regions in a healthy and in a pathologically altered gingiva are often contradictory. Possibly this may be ascribed to the effect of different functional stimuli and insufficient knowledge of the factors leading to a change in the gingival epithelium, thus forming the basis for pathological processes in the parodontium.

Exfoliative cytology of the superficial epithelium of a healthy and a pathologically changed gingiva reported on in this paper is a contribution towards better knowledge of the link between the endocellular structure of the gingival epithelium and functional manifestations in the parodontium.

Zusammenfassung

EXFOLIATIV-ZYTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN DES EPITHELS DER MUNDHÖHLE MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG AUF DIE GINGIVA

Um den Reifegrad des Oberflächenepithels von einzelnen Regionen der Mundhöhlenschleimhaut zu bestimmen, bedienten wir uns der exfoliativ-zytologischen Methode. Die Technik des oberflächlichen Ausstrichs ist sehr geeignet, da die polychromatische Färbung der Zellbestandteile die morphologische Differenzierung und Reifebestimmung jeder einzelnen Zelle ermöglicht.

Die Literaturangaben über die Differenzierung der endozellulären morphologischen Struktur der einzelnen Epithelregionen der gesunden und kranken Gingiva, sind häufig kontradiktorisch. Wahrscheinlich wird dies durch den Einfluss verschiedener Funktionsreize und infolge ungenügender Kenntnis der Faktoren welche zu Veränderungen im Epithel der Gingiva führen und derart die Grundlagen zu pathologischen Prozessen im Parodont schaffen, verursacht.

Die angeführten exfoliativ-zytologischen Untersuchungen stellen einen Beitrag zur Kenntnis der Interaktion zwischen endozellulärer Epithelstruktur der Gingiva und der Funktion des Parodonts, dar.

LITERATURA

1. BERTALANFFY, F., D.: Acta Cytol., 7:362, 1963
2. BERTALANFFY, F., D.: Acta Cytol., 8:373, 1964
3. MILLER, W., D.: Die Microorganismen der Mundhöhle, G. Thieme, Leipzig, 1889
4. SCHULZE, F., E.: Arch. mikr. Anat., 3:137, 1867
5. EBNER, V.: Von den Verdauungsorganen, Bd. 3., W. Engelmann, Leipzig, 1902
6. PAPANICOLAOU, G., N.: Am. J. Anat., 52:519, 1933
7. PAPANICOLAOU, G., N.: Atlas of exfoliative cytology, Cambridge Mass., 1954
8. SCHNEIDER, G.: Dtsch. Zahn-, Mund- Kieferhk., 16:396, 1952
9. FASSKE, E., HAHN, W.: Mitt. Ges. Krebskr. NRW, 2:1, 1958
10. FASSKE, E., HAHN, W.: Mitt. Ges. Krebskr. NRW, 2:146, 1961
11. SANDLER, H., C.: J. Am. Dent. Ass., 68:489, 1964
12. STREICHER, H., J. SANDKUHLER St.: Klinische Zytologie, G. Thieme, Stuttgart, 1953
13. SCHROEDER, U.: Med. Diss., Münster, 1959
14. HAHN, W. LANGE, D.: Dtsch. Zahn-, Mund- und Kieferhk., 49:395, 1967
15. SILVERMAN, S.: Acta cytol., 9:287, 1965
16. AURER-KOŽELJ, J.: Stom. Dis., Zagreb, 1965
17. WEINMANN, J.: J. Dent. Res., 19:57, 1940
18. SANDLER, H. C.: Oral exfoliative cytology, Washington, 1963
19. BLANDEN, R. V.: J. Dent. Res., 42:9, 1963
20. WEINMANN, J., MEYER J.: J. Invest. Derm., 34:423, 1960
21. BLANDEN, R., V.: J. Dent. Res., 44:1198, 1965
22. BERN, H., A.: J. Histochem. Cytochem., 5:105, 1957
23. MONTGOMERY, P., W.: J. Dent. Res., 30:12, 1951
24. TROTT, J. R.: J. Periodont., 29:213, 1958
25. JAKOBS, A.: Brit. Dent. J., 7:249, 1959
26. SILVERMAN, S.: J. Oral. Ther. Phar., 3:87, 1966

27. ANDERMATT, O.: Med. Diss., Zürich, 1950
28. MUHLEMANN, H. R.: Stoma, 1:3, 1952
29. JUSEM, R.: Oral Surg., 3:1516, 1950
30. SCHOELDGEN, W.: Arch. Klin. exp. Derm., 201:556, 1955
31. ZITKA, E.: Öst. Z. Stomat., 57:303, 1960
32. WITT, H. C.: Zbl. Gynäkol., 83:1589, 1961
33. MAIN, D. M.: Brit. J. Derm., 79:20, 1967
34. SMOLKA, H. SOOST, H., J.: Atlas der gynäkologischen Zytodiagnostik, Thieme, Stuttgart, 1965
35. AURER-KOŽELJ, J.: Dtsch. Zahnärztl. Z., 19:973, 1964
36. LANGE, D.: Dtsch. Zahnärztl. Z., 21:210, 1966
37. MUHLEMAN, H. R.: J. Dent. Res., 33:459, 1954
38. KURTE, D.: Dtsch. Zahnärztl. Z., 16:196, 1962