

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.314.17-002-076.5

Базарный В.В., Полушина Л.Г., Максимова А.Ю., Светлакова Е.Н., Мандра Ю.В.

ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 620028, Екатеринбург, Россия

Данное исследование посвящено изучению особенностей буккального эпителия при хроническом генерализованном пародонтите (ХГП). Обследовано 102 пациента, у которых оценивали буккальную цитограмму. В результате проведенного исследования установили, что клетки в состоянии апоптоза являются достаточно чувствительным маркером начальной стадии (лёгкой степени) пародонтита. Число буккальных эпителиоцитов с данными особенностями возросло в 2,1, 3,0, 13,4 раза при ХГП лёгкой, средней и тяжёлой степени соответственно. Полученные данные свидетельствуют о накоплении цитологических аномалий (микроядра, протрузии ядра и другие) у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом.

Ключевые слова: буккальный эпителий; пародонтит.

Для цитирования: Базарный В.В., Полушина Л.Г., Максимова А.Ю., Светлакова Е.Н., Мандра Ю.В. Цитологическая характеристика буккального эпителия при хроническом генерализованном пародонтите. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (12): 773-776. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-12-773-776>

Bazarnyi V.V., Polushina L.G., Maksimova A.Y., Svetlakova E.N., Mandra Yu.V.

CYTOLOGICAL CHARACTERISTIC OF THE BUCCAL CELLS IN CHRONIC GENERALIZED PERIODONTITIS
FSBEI HE «Ural State Medical University»; 620028, Yekaterinburg, Russia

The research is devoted to the study of the occurrence of abnormal cells in buccal epithelium in patients with chronic generalize periodontitis. Buccal cytograms of 102 patients were examined. It was established that cells with karyopycnosis, karyorexis and karyolysis are a sensitive index of the initial stage (mild severity) in periodontitis. The number of buccal cells with these features was increased in 2.1; 3.0; 13.4 times for chronic generalized periodontitis of mild, moderate and severe degree, respectively. The obtained data shown the accumulation of cytological anomalies (micronucleus, protrusion of the nucleus and other) in patients with chronic generalized periodontitis.

Key words: buccal cells; periodontitis.

For citation: Bazarnyi V.V., Polushina L.G., Maksimova A.Y., Svetlakova E.N., Mandra Yu.V. Cytological characteristic of the buccal cells in chronic generalized periodontite. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2018; 63 (12): 773-776 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-12-773-776>

For correspondence: Bazarnyi V.V., MD, professor, senior researcher of the general pathology department; e-mail-vlad-bazarny@yandex.ru

Information about authors:

Bazarnyi V. V. <https://orcid.org/0000-0003-0966-9571>
Polushina L. G. <https://orcid.org/0000-0002-4921-7222>
Maksimova A. Yu. <https://orcid.org/0000-0001-8412-4315>
Svetlakova E.N. <https://orcid.org/0000-0002-7592-8343>
Mandra Yu.V. <https://orcid.org/0000-0002-8439-3272>

Conflict of interests. The authors declare the absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 03.09.2018

Accepted 21.11.2018

Цитологическое исследование буккального эпителия (БЭ) до последнего времени было ограничено так называемым «микроядерным тестом», который считается одним из показателей генотоксического воздействия факторов внешней среды и нестабильности генома при канцерогенезе [1–4]. В настоящее время данный тест сохраняет свою актуальность при проведении биомониторинга, о чём свидетельствует возрастающее число публикаций [5–9]. Однако постепенно накапливались данные о реактивных изменениях буккальной цитограм-

мы при таких заболеваниях, как сахарный диабет 2-го типа, талассемия и др. [10–13]. В то же время клиническая значимость клеточных изменений не была установлена. Это определило цель исследования – установить диагностическую эффективность цитологических аномалий БЭ при хроническом генерализованном пародонтите (ХГП).

Материал и методы. Работа основана на результатах клинико-лабораторного обследования 102 человек в возрасте от 24 до 67 лет. Контрольная группа представлена 38 практически здоровыми добровольцами, основная группа – 64 пациентами (36 – пародонтит лёгкой степени, 13 – пародонтит средней степени, 15 – тяжёлой степени). Диагноз ХГП был установлен на основании стандартных клинико-рентгенологических критериев,

Для корреспонденции: Базарный Владимир Викторович, д-р мед. наук, проф., гл. науч. сотр. отдела общей патологии; e-mail: vlad-bazarny@yandex.ru

ЦИТОЛОГИЯ

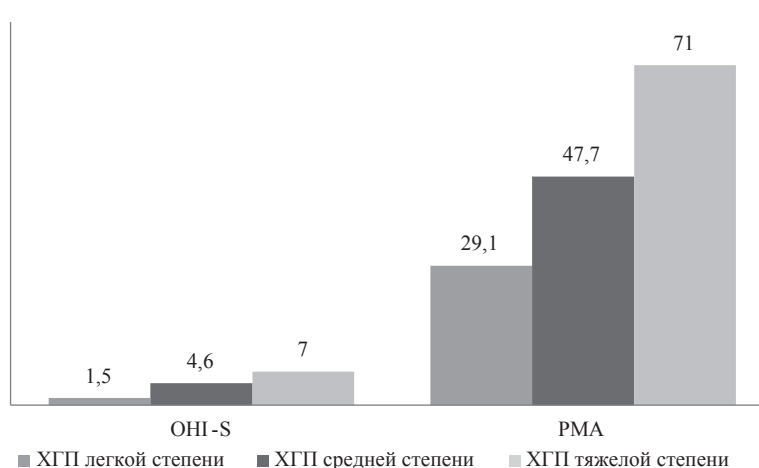
принятых «Стоматологической ассоциацией России» (2013). Кроме того, дополнительно определяли упрощённый индекс гигиены – ОНИ-S и папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс – РМА.

Для цитологического исследования материал собирали с внутренней поверхности щеки с помощью цитощётки и переносили на предметное стекло, равномерно распределяя биоматериал. Фиксация препаратов осуществлялась красителем-фиксатором эозин метиленовый синий типа Лейшмана в течение 2 мин с последующей окраской раствором азура-эозина по Романовскому в течение 20 мин. При подсчёте 1000 клеток определяли соотношение базальных, промежуточных и поверхностных клеток. Кроме того, оценивались следующие цитологические аномалии: клетки с микроядрами, двуядерные клетки, клетки с протрузиями, клетки в состоянии апоптоза и перинуклеарной вакуолю, результат выражали в процентах. Статистический анализ данных проводился с использованием средств пакета Microsoft Excel и программой анализа данных Gretel. Достоверность различий между группами оценивали с помощью непараметрического статистического критерия Манна-Уитни. Диагностические характеристики определяли с помощью ROC-анализа (программа MedCalc).

Результаты. Анализ стоматологического статуса пациентов выявил существенные изменения стандартных индексов, используемых в пародонтологии – ОНИ-S и РМА, что подтверждает адекватность распределения пациентов по группам и отражает тяжесть процесса (см. рисунок).

В буккальных цитограммах у большинства пациентов отсутствовали базальные клетки, отмечено снижение уровня промежуточных и повышение числа поверхностных по мере нарастания тяжести ХГП (табл. 1).

Содержание клеток с аномалиями, указывающими на цитологические особенности (клетки с микроядрами



Клиническая характеристика пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом.

ОНИ-S - упрощенный индекс гигиены; РМА - папиллярно-маргинально альвеолярный индекс.

и ядерными протрузиями), также возрастало по мере прогрессирования заболевания; так, количество последних было в 2,4 раза выше, чем в контрольной группе. Но более выраженным было возрастание числа клеток с микроядрами, в частности при тяжелой степени пародонтита, – в 4 раза ($p < 0,01$).

Кариолизис, кариопикноз и кариорексис – последовательные стадии деградации клеточного ядра, в результате чего формируются апоптические тельца. Число буккальных эпителиоцитов с данными особенностями возрастало в 2,1; 3,0; 13,4 раза при ХГП легкой, средней и тяжелой степени соответственно (табл. 1).

Полученные данные свидетельствуют о накоплении цитологических аномалий (микроядра, протрузии ядра) у пациентов с ХГП, повышении активности апоптоза и дегенеративно-дистрофических процессов, характерных для хронического воспаления.

Для объективной оценки диагностической ценности установленных сдвигов использовался ROC-анализ,

Таблица 1

Цитограмма буккального эпителия при хроническом генерализованном пародонтите

Показатели	Контрольная группа Me (Q)	ХГП лёгкой степени Me (Q), %	ХГП средней степени Me (Q), %	ХГП тяжёлой степени Me (Q), %
Промежуточные клетки, %	57,6 (46,4; 89,0)	60,7 (51,5; 70,6)	61,2 (54,6; 70,4)	53,6 (47,9; 62,9)
<i>p</i>		0,07	0,06	0,08
Поверхностные клетки, %	32,0 (3,7; 44,9)	11,6 (6,8; 25,8)	7,4 (6,6; 13,4)	14,6 (7,0; 25,5)
<i>p</i>		0,07	0,03	0,06
Клетки с микроядрами, %	0,1 (0; 0,6)	1,6(0; 3,0)	3,4 (0; 4,0)	4,4 (0; 5,0)
<i>p</i>		0,13	0,006	0,003
Клетки с протрузиями, %	0(0; 0,4)	1,2(0;2,2)	2,4 (0; 3,1)	2,4 (0; 4,2)
<i>p</i>		0,09	0,006	0,01
Двуядерные клетки, %	1,2 (0,2; 2,2)	1,3(0,8; 1,6)	1,6 (1,4; 2,0)	1,4 (1,1; 1,7)
<i>p</i>		0,06	0,12	0,08
Клетки в состоянии апоптоза, %	0,9(0,4; 1,4)	2,3 (0,8; 4,3)	4,3 (1,1;3,8)	12,0 (1,4; 8,7)
<i>p</i>		0,005	0,006	0,003

Примечание. *p* – в сравнении с контрольной группой.

Таблица 2

**Диагностическая эффективность цитологических аномалий
буккального эпителия при хроническом генерализованном
пародонтите**

Показатель	ДЧ, %	ДС, %	AUC
Клетки с микроядрами	64	74	0,67
Клетки с протрузиями	54	95	0,68
Двухядерные клетки	68	49	0,54
Клетки в состоянии апоптоза	67	85	0,67
Клетки с перинуклеарной вакуолью	52	81	0,66

Таблица 3

**Диагностические характеристики цитологических аномалий
при хроническом генерализованном пародонтите лёгкой степе-
ни тяжести**

Показатель	Критическое значение, %	AUC
Клетки с микроядрами	1,2	0,65
Двухядерные клетки	2,2	0,51
Клетки с протрузией	0,8	0,65
Клетки в состоянии апоптоза	2,4	0,70
Клетки с перинуклеарной вакуолью	0,4	0,56

который позволяет рассчитать диагностическую специфичность (ДС) и диагностическую чувствительность (ДЧ) показателей, а также диагностическую эффективность, которая выражается величиной площади под ROC кривой (AUC).

Как следует из приведённых в табл. 2 данных, диагностическая чувствительность выявленных цитологических аномалий невысока, а величина AUC не превышает значения 0,7, что также подтверждает их невысокую диагностическую значимость.

Учитывая, что диагностика тяжёлых форм ХГП чаще всего не вызывает проблем в клинической практике, в отличие от начальных проявлений заболевания, мы проанализировали диагностические характеристики изученных параметров при лёгкой степени ХГП (табл. 3). Критические значения показателей определены с помощью статистической программы MedCalc.

Такой подход позволили выявить, что наиболее значимым показателем в ранней диагностике лёгкой степени ХГП можно считать уровень клеток в состоянии апоптоза с кариопикнозом, кариорексисом и кариолизисом (табл. 3).

Обсуждение. Ранее нами было показано, что у пациентов с ХГП нарушены локальные механизмы иммунореактивности (продукция секреторных иммуноглобулинов, лактоферрина, цитокинов и др.), которые нормализовались после проведения лечебных мероприятий [14, 15]. В данном исследовании установлены реактивные изменения БЭ, которые патогенетически скорее всего взаимосвязаны с указанными выше иммунологическими сдвигами. На основании полученных данных можно заключить, что подсчёт числа клеток с протрузиями, микроядрами и в состоянии апоптоза в БЭ может иметь диагностическое значение при ХГП, а число клеток с деструкцией ядра является достаточно чувствительным критерием начальной стадии (лёгкой степени тяжести) ХГП. Стоит отметить, что поскольку цитологические и кариологические особенности буккальных клеток имеют однонаправленные с активно-

стью заболевания изменения, их можно считать показателями тяжести ХГП.

Снижение активности пролиферативных процессов в сочетании с повышением уровня клеток с дегенеративно-дистрофическими изменениями ядра легко объяснимо механизмами воспаления пародонтальных тканей [16, 17].

Нарастание числа клеток с микроядрами и другими маркерами цитологических нарушений при ХГП ряд авторов связывают не только с активностью воспалительного процесса, но и с другими факторами. К ним относят, в частности, воздействие дентальной рентгенографии на слизистую оболочку полости рта, которой нередко подвергаются пациенты [18, 19]. Кроме того, выраженные цитологические аномалии можно объяснить при тяжёлой степени ХГП «накоплением» воздействия неблагоприятных факторов среды [3, 4], сопутствующих прогрессированию заболевания.

Заключение. Таким образом, цитологическое исследование БЭ - буккальная цитограмма может стать инструментом оценки системных и локальных реакций организма при ХГП, а также одним из методов определения эффективности лечебно-профилактических средств, в частности - в стоматологии [5].

Дальнейшие исследования позволяют установить референсные значения изучаемых показателей и возможность их использования в лабораторном мониторинге пациентов. Такой подход можно считать перспективным в связи с неинвазивным характером данной методики.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания АААА-А18-118042890061-4.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1–4, 6–13, 16-19
см. REFERENCES)

- Мандра Ю.В., Базарный В.В., Чупахин О.Н., Хонина Т.Г., Семенова Е.А., Светлакова Е.Н. и др. Клинико-морфологическая оценка эффективности применения инновационной лечебно-профилактической зубной пасты в комплексном лечении пациентов молодого возраста с основными стоматологическими заболеваниями. *Проблемы стоматологии.* 2017;13(3): 29-35.
- Базарный В.В., Полушина Л.Г., Ваневская Е.А. Иммунологический анализ ротовой жидкости как потенциальный диагностический инструмент. *Российский иммунологический журнал.* 2014; 8(17): 769-71.
- Базарный В.В., Полушина Л.Г., Семенова Е.А., Шарипова Н.И. Клинико-лабораторная характеристика слизистой оболочки полости рта при пародонтите. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2016; 9: 518.

REFERENCES

- Gashi G., Mahovlić V., Manxhuka-Kerliu S., Podrimaj-Bytyqi A., Gashi L., Elezaj I.R. The association between micronucleus, nucleoplasmic bridges, and nuclear buds frequency and the degree of uterine cervical lesions. *J. Biomarkers.* 2018; 31:1-9.
- Renaud-Vilmer C., Cavellier-Balloy B. Precancerous lesions of the buccal epithelium. *Ann. Dermatol. Venereol.* 2017;144(2):100-8.
- Saba R., Halytsky O., Saleem N., Oliff I.A. Buccal epithelium, cigarette smoking, and lung cancer. Review of the Literature. *J. Oncology.* 2017; 93: 347-53.
- Shashikala R., Indira A.P., Manjunath G.S., Rao K.A., Akshatha B.K. Role of micronucleus in oral exfoliative cytology. *J. Pharm Bioallied Sci.* 2015;7(2):409-13.
- Mandra Y.Y., Bazarnyi V.V., Chupakhin O.N., Khonina T.G., Sements-

ЦИТОЛОГИЯ

- ova E. A., Svetlakova E. N. et al. Clinico-morphological estimation of efficiency of application of innovative treatment and prophylactic toothpaste in the complex treatment of young patients with basic dental diseases. *Problemy stomatologii* .2017;13(3): 29-35. (in Russian)
6. Benvindo-Souza M., Assis R.A., Oliveira E.A.S., Borges R.E., Santos L.R.S. The micronucleus test for the oral mucosa: global trends and new questions. *Enviro Sci Pollut Res. Int.* 2017; 24(36): 27724-30.
 7. Butt F., Cheema K., Nisar N., Qureshi J. Cytogenetic bio-monitoring in fuel station attendants of Gujrat, Pakistan through buccal micronucleus cytome assay. *J. Pak Med Assoc.* 2017;67(7):1039-44.
 8. Naderi N.J., Pasha M.P. Comparison of cytotoxic effect of cigarette and waterpipe smoking on human buccal mucosa. *International J. of Preventive Medicine*.2017; 8: 98.
 9. Smitha S., Arul P., Masilamani S., Akshatha C., Naveen Kumar B. Evaluation of micronucleus in exfoliated buccal epithelial cells using liquid-based cytology preparation in petrol station workers. *Indian J. Med. Paediatr. Oncol.*2017; 38(3): 273–6.
 10. Cuello-Almarales D.A., Almaguer-Mederos L.E., Vázquez-Mojena Y., Almaguer-Gotay D., Zayas-Feria P., Laffita-Mesa J.M., González-Zaldívar Y., Aguilera-Rodríguez R., Rodríguez-Estupiñán A., Velázquez-Pérez L. Buccal cell micronucleus frequency is significantly elevated in patients with spinocerebellar ataxia type 2. *Archives of Medical Research.* 2017;48(3):297-302.
 11. Gajaria P.K., Maheshwari U.M., Borkar D.B., Dhar R., Pancholi V. Buccal mucosa exfoliative cell prussian blue stain co-relates with iron overload in β -thalassemia major patients. *Indian Journal Hematology Blood Transfusion.*2017; 33(4): 559-64.
 12. Khan S., Khan A.U., Hasan S. Genotoxic assessment of chlorhexidine mouthwash on exfoliated buccal epithelial cells in chronic gingivitis patients. *Journal Indian Society Periodontology.* 2016; 20(6): 584-91.
 13. Sahu M., Suryawanshi H., Nayak S., Kumar P. Cytomorphometric analysis of gingival epithelium and buccal mucosa cells in type 2 diabetes mellitus patients. *J. Oral Maxillofac Pathol.* 2017; 21(2): 224-8.
 14. Bazarnyi V.V., Polushina L.G., Vanevskaya E.A. Immunological assay oral fluid as potential diagnostic tool. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal* .2014;8(17):769-71. (in Russian)
 15. Bazarnyi V.V., Polushina L.G., Sementsova, E. A., Sharipova N. A. Clinical and laboratory characteristics of the mucous membrane of the oral cavity with periodontitis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2016; 9: 518. (in Russian)
 16. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunology.* 2014; 35(1): 3-11.
 17. Silva N., Abusleme L., Bravo D., Dutzan N., Garcia-Sesnich J. Host response mechanisms in periodontal diseases. *J. Appl Oral.* 2015; 23(3): 329-55.
 18. Gómez-Meda B.C., Ramírez-Aguilar M.Á., Zúñiga-González G.M. Increased micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa and oxidative damage in saliva from patients with chronic and aggressive periodontal diseases. *Journal Periodontal Research.* 2015; 50(1): 28-36.
 19. Zamora-Perez A.L., Ortiz-García Y.M., Lazalde-Ramos B.P., Guerrero-Velázquez C. Buccal mucosa cell damage in individuals following dental X-ray examinations. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 2509.

Поступила 03.09.18

Принята к печати 21.11.18