

УДК 616.311-002:576.385

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

## ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕССОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА В БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГИНГИВИТЕ

Уральский государственный медицинский университет,  
г. Екатеринбург, Российская Федерация

*V.V. Bazarnyi, L.G. Polushina, A.Yu. Maksimova,  
E.N. Svetlakova, E.A. Sementsova*

## CYTOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE PROLIFERATION AND APOPTOSIS PROCESSES ON BUCCAL EPITHELIUM IN CHRONIC GINGIVITIS

Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

**Резюме.** *Цель работы* — оценить значение цитологического исследования буккального эпителия при хроническом гингивите. *Материалы и методы.* Обследовано 22 пациента с хроническим гингивитом (ХГ) и 20 практически здоровых добровольцев. Исследована буккальная цитограмма до начала лечения. При подсчёте 1000 клеток определяли базальные и дифференцированные клетки, двуядерные эпителиоциты, индекс апоптоза и цитогенетический индекс. *Результаты.* При ХГ количество базальных клеток имело тенденцию к снижению, а содержание двуядерных клеток промежуточного и поверхностного слоев уменьшалось на 34% в сравнении с контрольной группой ( $p=0,02$ ). Индекс апоптоза и цитогенетический индекс существенно не менялись. *Заключение.* Исследование позволило выявить особенности состояния буккального эпителия при хроническом гингивите. Установлено незначительное нарушение процессов пролиферации эпителия, в то время как уровень клеток на разных стадиях апоптоза существенно не менялся. Сопоставляя эти данные с изученными ранее цитологическими изменениями буккального эпителия при хроническом генерализованном пародонтите, можно сформулировать предположение о механизмах прогрессирования патологии пародонта.

**Ключевые слова:** буккальная цитограмма, хронический гингивит, апоптоз

**Abstract.** *The aim of this work* is to estimation of buccal cytology in chronic gingivitis.

*Materials and methods.* 22 patients with chronic gingivitis (CG) and 20 healthy volunteers were examined. The buccal cytology was examined before treatment. When counting 1000 cells basal and differentiated cells, the apoptotic index and the cytogenetic index were determined.

*Results.* The level of epithelial cells in basal layer tended to decrease, while the content of binuclear cells of the intermediate and superficial layers decreased by 34% in comparison with the control group ( $p=0.02$ ). The apoptotic index and the cytogenetic index did not change significantly. *Conclusion.* The study revealed features of the oral cavity tissue homeostasis in chronic gingivitis. An insignificant contravention of epithelial cells proliferation processes was established when apoptosis did not change. Comparing these data with previously studied cytological changes in the buccal epithelium in chronic generalized periodontitis, one can formulate the mechanisms of the of periodontal pathology progression.

**Keywords:** buccal cytology, chronic gingivitis, apoptosis

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Базарный Владимир Викторович  
vlad-bazarny@yandex.ru

Contact details of the corresponding author:

Vladimir V. Bazarnyi  
vlad-bazarny@yandex.ru

Дата поступления 05.03.2019

Received 05.03.2019

## Образец цитирования:

Базарный В.В., Полушина Л.Г., Максимова А.Ю., Светлакова Е.Н., Семенцова Е.А. Цитологическая характеристика процессов пролиферации и апоптоза в буккальном эпителии при хроническом гингивите. Вестник уральской медицинской академической науки. 2019, Том 16, № 1, с. 22–26, DOI: 10.22138/2500-0918-2019-16-1-22-26

## For citation:

Bazarnyi V.V., Polushina L.G., Maksimova A.Yu., Svetlakova E.N., Sementsova E.A. Cytological characteristics of the proliferation and apoptosis processes on buccal epithelium in chronic gingivitis. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2019, Vol. 16, no. 1, pp. 22–26. DOI: 10.22138/2500-0918-2019-16-1-22-26 (In Russ)

Данные о распространенности гингивита в популяции очень противоречивы (6–94%), что связано, в частности, с проблемами классификации и диагностики заболевания. Поэтому одним из перспективных и актуальных направлений исследований в области пародонтологии считают дальнейшее развитие методов неинвазивной диагностики [1, 2]. Изучение биомаркеров в ротовой жидкости относится к числу наиболее изучаемых показателей при заболеваниях пародонта [3, 4, 5]. Внимание исследователей в данной области приковано к изучению цитокинового баланса [6, 7, 8]. Это позволяет не только оценивать активность воспалительного процесса, но и продолжать исследование патогенетических механизмов поражения пародонта. При этом надо понимать, что цитокиновый профиль ротовой жидкости определяется не только состоянием пародонтальных тканей, но и находится под влиянием других факторов, в частности — стресса, гормонов, метаболических факторов и других [7, 9]. Поэтому поиск интегральных маркеров гомеостаза полости рта продолжается. Одним из доступных диагностических инструментов могла бы стать оценка состояния буккального эпителия (БЭ). Многие годы его исследование ограничивалось «микроядерным тестом», позволяющим оценивать мутагенные эффекты факторов внешней среды или изучением колонизационной активности (способности эпителиоцитов адгезировать на своей поверхности бактерии); в клинической практике — для цитологической диагностики онкопатологии. В более поздних немногочисленных работах показаны возможности цитологической характеристики БЭ для оценки локальных реакций при различных заболеваниях, в частности — при хроническом генерализованном пародонтите (ХГП), а также для определения эффективности лечебно-профилактических средств в [6, 10]. Тем не менее, следует признать, что в настоящее время буккальная цитограмма не нашла широкого клинко-лабораторного применения. Между тем такой подход можно считать перспективным в связи с достаточно высокой информативностью и неинвазивностью данной методики. Этим обусловлена цель исследования — оценить значение цитологического исследования буккального эпителия при хроническом гингивите (ХГ).

**Материалы и методы**

Работа основана на результатах клинко-лабораторного обследования 42 человек в возрасте от

24 до 57 лет. Контрольная группа представлена 20 практически здоровыми добровольцами, основная группа — 22 пациента с хроническим катаральным гингивитом. Диагноз ХГ был установлен на основании стандартных критериев, принятых «Стоматологической ассоциацией России» (2014). У всех обследованных определяли дополнительно папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс, характеризующий состояние десны.

Для цитологического исследования БЭ материал собирали с внутренней поверхности щеки с помощью цитощетки 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 азур-эозина по Романовскому в течение 20 мин. При подсчете 1000 клеток (увеличение  $\times 1000$ ) определяли базальные и дифференцированные клетки. В клетках поверхностного и промежуточного слоев оценивались клетки с двумя ядрами и цитологическими признаками апоптоза, к которым относят конденсацию хроматина, различные стадии распада ядра (кариорексис, кариопикноз, кариолизис) и апоптотические тельца. Сумму клеток с такими аномалиями выражали индексом апоптоза (в %). Сумму клеток с микроядрами и протрузиями ядра (в %) обозначали как цитогенетический индекс.

Учитывая, что распределение величин в вариационном ряду приближалось к нормальному, и вариация не превышала 30%, при статистическом анализе использовали параметрические критерии. Достоверность различий между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента. Применили статистическую программу MedCalc.

**Результаты исследования**

У пациентов основной группы клинически отмечались кровоточивость, отечность и изменение формы десен, что характерно для ХКГ. Подтверждением этому также является тот факт, что папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс у пациентов увеличивался в сравнении со здоровыми добровольцами в 4,6 раза (в группе сравнения медиана составляла 10,  $p=0,01$ ), что также характерно для поражения пародонта.

При оценке буккальной цитограммы учитывали показатели пролиферативной активности (базальные клетки, двуядерные клетки) и апоптоза (конденсированный хроматин, кариорексис, кариопикноз, кари-

олизис). Учитывая, что БЭ традиционно используется в биомониторинге с целью оценки мутагенных эффектов факторов внешней среды, также подсчитывали клетки с микроядрами и протрузиями ядра (цитогенетический индекс). Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Буккальная цитограмма при хроническом катаральном гингивите

Table 1  
Buccal cells in chronic gingivitis

Показатели/ Parameters	Контроль- ная группа/ Control group	Хрониче- ский гинги- вит/ Chronic gingivitis	p
Базальные клетки, % Basal cells, %	0,23±0,07	0,14± 0,06	0,42
Двухядерные клетки, % Binuclear cells, %	1,85±0,20	1,22 ±0,15	0,02
Индекс апоптоза, % Apoptotic index, %	7,96±1,49	9,65±1,65	0,18
Цитогенетический ин- декс, % Cytogenetic index, %	1,15±0,10	1,20 ±0,17	0,11

При ХГ количество базальных клеток имело тенденцию к снижению, а содержание двухядерных клеток промежуточного и поверхностного слоев уменьшалось на 34% в сравнении с контрольной группой ( $p=0,02$ ). Уменьшение числа двухядерных клеток отражает возможное нарушение митоза, с одной стороны, с другой — усиление процессов внутриклеточной регенерации по типу полиплоидии. Учитывая отсутствие изменений митогенетического индекса, можно с определенной уверенностью говорить, что данные о количестве двухядерных клеток в большей степени указывают на активацию процессов внутриклеточной регенерации, в то время как пролиферативная активность (судя по уровню базальных клеток) не меняется. Возможно, это является компенсаторной реакцией ткани при воспалении. Отсутствие повышенного числа цитогенетических аномалий (микроядра, клетки с протрузиями ядра) представляется логичным, поскольку все пациенты проживали в относительно сравнимых условиях крупного промышленного центра и среди них не было рабочих с особо вредными условия-

ми труда. Вместе с тем, имеется сообщение о том, что число клеток с микроядрами увеличивается у пациентов с гингивитом при использовании зубных паст с хлоргексидином [11]. То есть микроядерный тест, как и цитогенетический индекс, можно использовать в лабораторном мониторинге за пациентами с ХГ.

Мы не обнаружили повышенного числа клеток с морфологическими признаками апоптоза, как в случае с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП). Возможно, это связано с разной тяжестью поражения пародонта [12]. Известно, что состояние тканей пародонта ухудшается у женщин во время беременности, что объясняется рядом причин. Интересно, что в ранее проведенном исследовании установлено повышение уровня аннексина (одного из маркеров апоптоза) при гингивите, но только у беременных женщин [13]. Возможно, активация апоптоза отражает более тяжелое течение заболевания у беременных и формирование хронического пародонтита.

### Заключение

Гингивит и пародонтит — два родственных заболевания, две стадии одного патологического процесса. Однако морфологические изменения в тканях, а также механизмы прогрессирования патологического процесса описаны недостаточно [14]. Между тем, клеточный состав ротовой жидкости, в частности — содержание лейкоцитов, определенное методом проточной цитометрии, может стать чувствительным тестом для диагностики гингивита/воспаления тканей пародонта, чувствительность которого составила 76%, а специфичность — 80% [15, 16]. Таким образом, на основании проведенного исследования можно констатировать, что состояние буккального эпителия при ХГ существенно не изменяется, за исключением умеренно выраженных нарушений пролиферативной активности. Сопоставив полученные данные с ранее опубликованными нами результатами анализа буккальной цитограммы при ХГП, можно отметить, что у пациентов преобладал уровень клеток в состоянии апоптоза в сравнении с больными ХГ [12]. На основании этого можно полагать, что нарушение процессов внутриклеточной регенерации и повышение активности апоптоза сопровождают генерализацию и прогрессирование воспалительного процесса в тканях пародонта.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Chapple I.L.C., Mealey B.L., Van Dyke T.E., Bartold P.M., Dommisch H., Eickholz P. et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. J Periodontol.2018;89(1):74-84. doi: 10.1002/JPER.17-0719.

### REFERENCES

1. Chapple I.L.C., Mealey B.L., Van Dyke T.E., Bartold P.M., Dommisch H., Eickholz P. et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. J Periodontol.2018;89(1):74-84. doi: 10.1002/JPER.17-0719.

2. Preshaw P.M. Detection and diagnosis of periodontal conditions amenable to prevention. *BMC Oral Health*. 2015;15( 1):5. doi: 10.1186/1472-6831-15-S1-S5.
3. Braz-Silva P.H., Bergamini M.L., Mardegan A.P., De Rosa C.S., Hasseus B., Jonasson P. Inflammatory profile of chronic apical periodontitis: a literature review. *Acta Odontol Scand*. 2018; 26:1-8. doi: 10.1080/00016357.2018.1521005.
4. Gupta S., Chhina S., Arora S.A. A systematic review of biomarkers of gingival crevicular fluid: Their predictive role in diagnosis of periodontal disease status. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2018;8(2):98-104. doi: 10.1016/j.jobcr.2018.02.002.
5. Rosa N., Correia M.J., Arrais J.P, Costa N., Oliveira J.L, Barros M. The Landscape of Protein Biomarkers Proposed for Periodontal Disease: Markers with Functional Meaning *Biomed Res Int*. 2014;26: 32. doi: 10.1155/2014/569632.
6. Полушина Л.Г., Светлакова Е.Н., Семенцова Е.А., Мандра Ю.В., Базарный В.В. Клинико-патогенетическое значение некоторых цитокинов при пародонтите. *Медицинская иммунология*. 2017; 19.(6): 803-806. doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-803-806
7. Doğan G.E., Toraman A., Şebin S.Ö., Doğan Ç., Güngör A., Aksoy H.et al. Salivary IL-6 and IL-10 levels in subjects with obesity and gingivitis. *Clin Oral Investig*. 2018;31:99. doi: 10.1007/s00784-018-2569-9.
8. Nisha K.J., Suresh A., Anilkumar A., Padmanabhan S. MIP-1 $\alpha$  and MCP-1 as salivary biomarkers in periodontal disease. *Saudi Dent J*. 2018;30(4):292-298. doi: 10.1016/j.sdentj.
9. Yarkac F.U., Gokturk O., Demir O. Interaction between stress, cytokines, and salivary cortisol in pregnant and non-pregnant women with gingivitis. *Clin Oral Investig*. 2018; 31:69. doi: 10.1007/s00784-018-2569-9.
10. Мандра Ю.В., Базарный В.В., Чупахин О.Н., Хонина Т.Г., Семенцова 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. doi: 10.18481/2077-7566-2017-13-3-29-35.
11. Khan S., Khan A.U., Hasan S. Genotoxic assessment of chlorhexidine mouthwash on exfoliated buccal epithelial cells in chronic gingivitis patients. *J Indian Soc Periodontol*. 2016; 20(6): 584–591. doi: 10.4103/jisp.jisp\_9\_17.
12. 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;12(63):773-776. doi: 10.18821 / 0869-2084-2018-63-12-773-776.
13. Hassan M.N., Belibasakis G.N., Gumus P., Öztürk V.Ö., Emingil G., Bostanci N. Annexin-1 as a salivary biomarker for gingivitis during pregnancy. *J Periodontol*. 2018;89(7):875-882. doi: 10.1002/JPER.17-0557.
2. Preshaw P.M. Detection and diagnosis of periodontal conditions amenable to prevention. *BMC Oral Health*. 2015;15( 1):5. doi: 10.1186/1472-6831-15-S1-S5.
3. Braz-Silva P.H., Bergamini M.L., Mardegan A.P., De Rosa C.S., Hasseus B., Jonasson P. Inflammatory profile of chronic apical periodontitis: a literature review. *Acta Odontol Scand*. 2018; 26:1-8. doi: 10.1080/00016357.2018.1521005.
4. Gupta S., Chhina S., Arora S.A. A systematic review of biomarkers of gingival crevicular fluid: Their predictive role in diagnosis of periodontal disease status. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2018;8(2):98-104. doi: 10.1016/j.jobcr.2018.02.002.
5. Rosa N., Correia M.J., Arrais J.P, Costa N., Oliveira J.L, Barros M. The Landscape of Protein Biomarkers Proposed for Periodontal Disease: Markers with Functional Meaning *Biomed Res Int*. 2014;26: 32. doi: 10.1155/2014/569632.
6. Polushina L.G., Svetlakova E.N., Sementsova E.A., Mandra Yu.V., Bazarnyi V.V. Clinical and pathogenetic significance of some cytokines in periodontitis. *Medical immunology*. 2017; 19. (6): 803-806. doi: 10.1155/2014/569632. (In Russ)
7. Doğan G.E., Toraman A., Şebin S.Ö., Doğan Ç., Güngör A., Aksoy H.et al. Salivary IL-6 and IL-10 levels in subjects with obesity and gingivitis. *Clin Oral Investig*. 2018;31:99. doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-803-806.
8. Nisha K.J., Suresh A., Anilkumar A., Padmanabhan S. MIP-1 $\alpha$  and MCP-1 as salivary biomarkers in periodontal disease. *Saudi Dent J*. 2018;30(4):292-298. doi: 10.1016/j.sdentj.
9. Yarkac F.U., Gokturk O., Demir O. Interaction between stress, cytokines, and salivary cortisol in pregnant and non-pregnant women with gingivitis. *Clin Oral Investig*. 2018; 31:69. doi: 10.1007/s00784-018-2569-9.
10. Mandra Yu.V., Bazarnyi V.V., Chupakhin O.N., Khonina T.G., Sementsova Ye.A., Svetlakova E.N. et al. Clinical and morphological assessment of the effectiveness of the use of innovative therapeutic and preventive toothpaste in the complex treatment of patients young age with major dental diseases. *Dentistry problems*. 2017; 13 (3): 29-35. doi: 10.18481/2077-7566-2017-13-3-29-35. (In Russ)
11. Khan S., Khan A.U., Hasan S. Genotoxic assessment of chlorhexidine mouthwash on exfoliated buccal epithelial cells in chronic gingivitis patients. *J Indian Soc Periodontol*. 2016; 20(6): 584–591. doi: 10.4103/jisp.jisp\_9\_17.
12. Bazarnyi V.V., Polushina L.G., Maksimova A.Yu., Svetlakova E.N., Mandra Yu.V., Cytological characteristics of buccal epithelium in chronic hepatitis C. *Clinical laboratory diagnosis*. 2018; 12 (63): 773-776. doi: 10.18821 / 0869-2084-2018-63-12-773-776 (In Russ)
13. Hassan M.N., Belibasakis G.N., Gumus P., Öztürk V.Ö., Emingil G., Bostanci N. Annexin-1 as a salivary biomarker for gingivitis during pregnancy. *J Periodontol*. 2018;89(7):875-882. doi: 10.1002/JPER.17-0557.

biomarker for gingivitis during pregnancy. J Periodontol. 2018;89(7):875-882. doi: 10.1002/JPER.17-0557.

14. Kurgan S., Kantarci A. Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. Periodontol 2000. 2018;76(1):51-67. doi: 10.1111/prd.12146.

15. Aps J.K., Van den Maagdenberg K., Delanghe J.R., Martens L.C. Flow cytometry as a new method to quantify the cellular content of human saliva and its relation to gingivitis. Clin Chim Acta. 2002;321(1-2):35-41. doi:10.1038/s41598-018-25311-0.

16. Coopman R., Speeckaert M.M., Aps J.K., Delanghe J.R. Flow cytometry-based analysis by Sysmex-UF1000i® is an alternative method in the assessment of periodontal inflammation. Clin Chim Acta. 2014;436:176-80. doi: 10.1016/j.cca.2014.05.021.

14. Kurgan S., Kantarci A. Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. Periodontol 2000. 2018;76(1):51-67. doi: 10.1111/prd.12146.

15. Aps J.K., Van den Maagdenberg K., Delanghe J.R., Martens L.C. Flow cytometry as a new method to quantify the cellular content of human saliva and its relation to gingivitis. Clin Chim Acta. 2002;321(1-2):35-41. doi:10.1038/s41598-018-25311-0.

16. Coopman R., Speeckaert M.M., Aps J.K., Delanghe J.R. Flow cytometry-based analysis by Sysmex-UF1000i® is an alternative method in the assessment of periodontal inflammation. Clin Chim Acta. 2014;436:176-80. doi: 10.1016/j.cca.2014.05.021.

---

#### Авторы

Базарный Владимир Викторович

Доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии.

vlad-bazarny@yandex.ru

Полушина Лариса Георгиевна

Научный сотрудник отдела общей патологии

polushina-larisa@bk.ru

Максимова Арина Юрьевна

Младший научный сотрудник отдела общей патологии

oreshek92@list.ru

Светлакова Елена Николаевна

Кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапевтической стоматологии и пропедевтики стоматологических заболеваний

svet\_anel11@mail.ru

Семенцова Елена Анатольевна

Кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапевтической стоматологии и пропедевтики стоматологических заболеваний

vanevs@mail.ru

Уральский государственный медицинский университет

Российская Федерация, 620028, Екатеринбург, ул. Репина 3

#### Authors

Vladimir V. Bazarnyi

Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics and Bacteriology

vlad-bazarny@yandex.ru

Larisa G. Polushina

Researcher

polushina-larisa@bk.ru

Arina Y. Maksimova

junior researcher

oreshek92@list.ru

Svetlakova Elena N.

Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor of the Preclinical Dentistry Department and Physiotherapy of Dental diseases

svet\_anel11@mail.ru

Sementsova Elena A.

Cand. Sci. (Med.), Assistant of the Preclinical Dentistry Department and Physiotherapy of Dental Diseases

vanevs@mail.ru

Ural State Medical University

Russian Federation, 620028, Ekaterinburg, Repin str. 3