

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco106242>

Эндозкология полости рта и цитоморфологические особенности буккального эпителия у лиц с воспалительными заболеваниями пародонта

А.С. Галиева, Н.В. Давидович, А.С. Оправин, Т.А. Бажукова, Л.Л. Шагров, Е.Н. Башилова, Т.Ю. Гагарина

Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Введение. Эндозкологический гомеостаз ротовой полости обеспечивается за счёт колонизационной резистентности микробиоты, а также защитных реакций со стороны иммунных и эпителиальных клеток, включая буккальный эпителий.

Цель. Установить цитоморфологические особенности буккального эпителия и состояние микробиоты, колонизирующей биотопы ротовой полости при пародонтите, у лиц, проживающих в условиях Арктической зоны Российской Федерации.

Материал и методы. Проведено поперечное клинично-лабораторное обследование лиц, постоянно проживающих в условиях Арктической зоны Российской Федерации ($n=91$), из них 67 пациентов с хроническим (генерализованным) пародонтитом лёгкой и средней степени и 24 человека с интактным пародонтом. Выполнены цитоморфологические исследования (индексная оценка и выявление аномалий) буккальных эпителиоцитов, молекулярно-генетические исследования (выделение пародонтопатогенов методом ПЦР в режиме реального времени), статистический анализ полученных данных.

Результаты. Установлены неудовлетворительные результаты индексной оценки в группе с пародонтитом: индекс дифференцировки клеток — 85% ($p < 0,001$), индекс кератинизации — 88% ($p < 0,001$). Цитогенетические нарушения, а также показатели апоптоза и пролиферативных процессов чаще выявляли в группе пациентов с пародонтитом: микроядра — 88,0%, протрузии — 71,6%, показатели пролиферации — 89,5%, кариолизис — 10,4% и кариорексис — 26,8%. Наиболее часто (70,1%) выявлялись маркёры *P. gingivalis*, в 41,8% случаев — *T. forsythia*, ассоциации пародонтопатогенов — в 17,8%. Установлены положительные корреляции средней и слабой степени между наличием клеток с цитоморфологическими нарушениями и определением *P. gingivalis*: клетки с микроядрами ($r=0,413$; $p < 0,001$), клетки с протрузиями ($r=0,228$; $p=0,029$), наличие двуядерных клеток ($r=0,402$; $p < 0,001$) и показателей апоптоза ($r=0,283$; $p=0,006$ и $r=0,383$; $p < 0,001$), а также между всеми исследуемыми цитоморфологическими нарушениями и выделением пародонтопатогена *T. forsythia*. Прямые корреляции средней степени установлены между выделением пародонтопатогенов в ассоциациях и наличием клеток с протрузиями, показателями пролиферации и апоптоза.

Заключение. Воспаление тканей пародонта обусловлено сдвигами эндозкологического равновесия: сочетанным действием пародонтопатогенных микробов, запускающим каскад иммунных реакций, которые приводят к повреждению тканевого микроокружения, в первую очередь клеток буккального эпителия.

Ключевые слова: цитоморфологический анализ; буккальный эпителий; пародонтопатогены; эндозкология полости рта; пародонтит; Арктическая зона Российской Федерации.

Как цитировать:

Галиева А.С., Давидович Н.В., Оправин А.С., Бажукова Т.А., Шагров Л.Л., Башилова Е.Н., Гагарина Т.Ю. Эндозкология полости рта и цитоморфологические особенности буккального эпителия у лиц с воспалительными заболеваниями пародонта // Экология человека. Т. 29, № 7. С. 471–480.
doi: <https://doi.org/10.17816/humeco106242>

Получена: 13.04.2022

Одобрена: 05.07.2022

Опубликована online: 29.07.2022

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco106242>

Endoecology of the oral cavity and cytomorphological features of buccal epithelium in people with inflammatory periodontal diseases

Aleksandra S. Galieva, Natalija V. Davidovich, Aleksandr S. Opravin, Tat'jana A. Bazhukova, Leonid L. Shagrov, Elena N. Bashilova, Tat'jana J. Gagarina

Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation

ABSTRACT

BACKGROUND: The state of endoecological homeostasis of the oral cavity is ensured based on the colonization resistance of the microbiota as well as the protective reactions on the part of immune and epithelial cells, including the buccal epithelium.

AIM: To establish cytomorphological features of the buccal epithelium and the state of the microbiota that colonizes the biotopes of the oral cavity in individuals with periodontitis living in the Arctic Zone of the Russian Federation.

MATERIAL AND METHODS: A cross-sectional clinical and laboratory examination of 91 people permanently residing under the conditions of the Arctic zone of the Russian Federation was conducted. Cytomorphological studies (index evaluation and detection of anomalies) of buccal epitheliocytes, molecular genetic studies (isolation of periodontopathogens by real-time PCR), and statistical analysis of the data obtained were conducted.

RESULTS: The results of the index evaluation in the group with periodontitis were unsatisfactory: cell differentiation index — 85%, $p < 0.001$, keratinization index — 88%, $p < 0.001$. The frequency of detection of cytogenetic disorders, indicators of apoptosis, and proliferative processes also prevailed in the group of patients with periodontitis: micronuclei — 88.0%, protrusions — 71.6%, proliferation rates — 89.5%, karyolysis — 10.4% and karyorrhexis — 26.8%. Most often (70.1%), the markers of *P. gingivalis* were detected, in 41.8% of cases — *T. forsythia*, associations of periodontopathogens — in 17.8%. Positive correlations of moderate and weak degree were identified between the presence of cells with cytomorphological disorders with the definition of *P. gingivalis*: cells with micronuclei ($r=0.413$; $p < 0.001$), cells with protrusions ($r=0.228$; $p=0.029$), presence of binuclear cells ($r=0.402$; $p < 0.001$), and indicators of apoptosis ($r=0.283$; $p=0.006$; $r=0.383$; $p < 0.001$), as well as between all the studied cytomorphological disorders and the release of the periodontal pathogen *T. forsythia*. Direct correlations of the average degree were established between the isolation of periodontopathogens in associations and the presence of cells with protrusions and indicators of proliferation and apoptosis.

CONCLUSION: Inflammation of periodontal tissues occurs as a result of a shift in the endoecological balance through the combined action of periodontal pathogenic microbes that trigger a cascade of immune responses, leading to damage of the tissue microenvironment, primarily the buccal epithelial cells.

Keywords: cytomorphological analysis; buccal epithelium; periodontopathogens; endoecology of the oral cavity; periodontitis; Arctic zone of the Russian Federation.

To cite this article:

Galieva AS, Davidovich NV, Opravin AS, Bazhukova TA, Shagrov LL, Bashilova EN, Gagarina TJ. Endoecology of the oral cavity and cytomorphological features of buccal epithelium in people with inflammatory periodontal diseases. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2022;29(7):471–480.

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco106242>

ВВЕДЕНИЕ

Эндозкологический гомеостаз ротовой полости обеспечивается за счёт колонизационной резистентности микробиоты, её саморегуляции и высокого потенциала неспецифических и иммунных защитных реакций со стороны эпителиальных и иммунных клеток [1]. Буккальный эпителий — часть мукозальной иммунной системы — представляет собой многослойный плоский неороговевающий эпителий. Эпителиоциты экспрессируют сигнальные молекулы и участвуют в межклеточных взаимодействиях, формировании иммунного ответа, активации и регулировании воспалительных процессов. Не менее значимая особенность — уровень естественной колонизации эпителиоцитов, определяющий состояние местного иммунитета и эндозкологический гомеостаз [2]. Микроорганизмы, находящиеся на поверхности эпителиоцитов, инвазируя эпителиальные клетки или оказывая воздействие на их структуру токсинами своей жизнедеятельности, инициируют секрецию цитокинов, поддерживая воспалительную реакцию. Клетки буккального эпителия экспрессируют, а при неблагоприятном воздействии — усиливают секрецию цитокинов, антимикробных пептидов и других медиаторов, взаимодействуя с нейтрофилами, эозинофилами, макрофагами, Т- и В-лимфоцитами. Образование цитокинов и хемокинов напрямую зависит от функционального состояния буккальных эпителиоцитов [3, 4].

Широко распространённые в Арктической зоне Российской Федерации стрессовые для организма человека факторы, такие как нарушение циркадного ритма, воздействие экстремальных условий окружающей среды, «экологические патогены», токсиканты, антропогенное загрязнение среды обитания, изменение характера питания и физической активности, вероятно, могут воздействовать на состав, функцию и метаболическую активность оральной микробиоты и влиять на состояние местного иммунитета [5, 6]. Одним из наиболее распространённых на Севере заболеваний полости рта является хронический пародонтит [7] — мультифакториальное заболевание, в основе которого лежит формирование микробной биоплёнки [3]. Воспалительные заболевания пародонта (ВЗП) на ранних стадиях обычно характеризуются слабовыраженной симптоматикой и часто не диагностируются вовремя, что обуславливает необходимость поиска новых методов для их раннего выявления. В центральных и южных регионах России у пациентов с ВЗП отмечается тенденция к нарастанию цитогенетической нестабильности буккального эпителия, повышению частоты встречаемости клеток с микроядрами [8]. Среди основных представителей резидентной микрофлоры полости рта выделяют оральные стрептококки (30–60%), вейлонеллы (25%) и дифтероиды (25%). В развитии ВЗП играют роль пародонтопатогенные виды 1-го порядка — *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* («красный комплекс»

по S.S. Socransky и др., 1998) и 2-го порядка — *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum/periodonticum*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* и др. [9]. В стоматологической практике изучение буккального эпителия представляет интерес, так как он является одним из основных маркёров состояния местного и общего эндозкологического гомеостаза организма и его нарушений.

Цель исследования. Установить цитоморфологические особенности буккального эпителия и состояние микробиоты, колонизирующей биотопы ротовой полости при пародонтите, у лиц, проживающих в условиях Арктической зоны Российской Федерации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено поперечное клинико-лабораторное обследование 91 человека, постоянно проживающих в условиях Арктической зоны Российской Федерации (Архангельская область, г. Северодвинск). Выполнены анкетирование, стоматологический осмотр, цитоморфологический и молекулярно-генетический анализ. Сбор данных проведён в соответствии с международным стандартом GCP по методике, рекомендованной ВОЗ. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Северного государственного медицинского университета (протокол № 08/11 от 28.11.2018 г.).

Критерии включения пациентов в исследование: возраст от 18 до 45 лет; заполненное письменное информированное согласие на участие; хронический пародонтит лёгкой и средней степени; удовлетворительный уровень гигиены; проживание в условиях Арктической зоны Российской Федерации не менее 5 лет. В исследование не включали пациентов по следующим критериям: отсутствие письменного информированного согласия на участие; возраст до 18 и старше 45 лет; наличие острых или хронических соматических заболеваний в стадии обострения. Критерии исключения: другие воспалительные или дегенеративные заболевания в полости рта, в частности острые и хронические формы гингивита, хронический пародонтит тяжёлой степени, локализованные формы пародонтита и патологические виды прикуса; беременность и послеродовой период; невозможность проведения всего объёма планируемых исследований.

Обследованные были разделены на 2 группы:

- 1-я группа ($n=67$) — пациенты с диагнозом K05.31 (хронический (генерализованный) пародонтит лёгкой, средней степени) в соответствии с МКБ-10;
- 2-я группа ($n=24$) — контрольная (пациенты с интактным пародонтом).

Клинический материал для исследования клеток буккального эпителия получали путём соскоба со здорового участка слизистой оболочки щеки, наносили на обезжиренное стекло и высушивали при комнатной температуре. Препараты фиксировали в 96% этиловом спирте с последующим окрашиванием по Романовскому–Гимзе [10, 11].

Цитологическое исследование проводили под иммерсией, с использованием светового микроскопа Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Germany) при помощи программного комплекса «МЕКОС-Ц2» («МЕдицинские КОмпьютерные Системы (МЕКОС)», Россия). В полученных образцах исследовали реакцию адсорбции микроорганизмов (РАМ), индекс дифференцировки клеток (ИДК) и индекс кератинизации (ИК). В соскобах фиксировали цитогенетические нарушения (наличие микроядер, протрузий), показатели апоптоза (кариорексис, кариолизис) и пролиферативные процессы (наличие многоядерных и двуядерных клеток).

Для определения РАМ в препаратах рассчитывали количество бактерий, адсорбированных на поверхности каждой эпителиальной клетки (расчёт проводили на 100 клеток). По количеству микроорганизмов клетки были разделены на 5 групп, определена их принадлежность к отрицательной РАМ (РАМ-) или положительной РАМ (РАМ+). Неспецифическую резистентность слизистой оболочки рта определяли в зависимости от количества клеток с РАМ+. Удовлетворительный показатель РАМ+ фиксировали при 31% и выше.

Индекс дифференцировки клеток определяли с помощью окуляра-линейки в соскобах: вычисляли ядерно-цитоплазматическое соотношение 100 эпителиальных клеток, на основании которого оценивали степень дифференцировки каждого эпителиоцита и присваивали одну из 6 степеней дифференцировки. ИДК вычисляли по формуле $ИДК = 1a + 2b + 3v + 4г + 5д + 6е$, где 1–6 — цифровое обозначение степеней дифференцировки, а, б, в, г, д, е — процент клеток соответствующей степени дифференцировки. Удовлетворительным значение ИДК считали в пределах 450–470.

Индекс кератинизации определяли, рассчитывая процент безъядерных клеток по формуле: $ИК = (\text{число ороговевших клеток} / \text{общее количество клеток}) \times 100$. Удовлетворительные значения ИК определяли в пределах 15–25% [11, 12].

Маркёрные пародонтопатогены *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* и *Candida albicans* выявляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в соответствии с инструкциями к наборам реагентов «ПародонтоСкрин» («ДНК-Технология», Россия). В качестве клинического материала использовали отделяемое зубодесневого кармана, полученное в ходе амбулаторного приема путём аспирации с помощью стерильного шприц-тюбика. Полученную пробу (2 мл) центрифугировали при 1500 об./мин в течение 20 мин. Аликвоты образцов замораживали и хранили при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения молекулярно-генетических исследований.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета программ Stata 12 (StataCorp, США). Категориальные переменные представлены в виде абсолютных чисел и долей (%).

Для определения значимости различий между количественными и качественными данными применяли критерий χ^2 Пирсона. Корреляционные взаимосвязи оценивали с помощью критерия Спирмена [13]. Критический уровень статистической значимости составил $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Функциональная характеристика клеток буккального эпителия включает определение способности адгезии микроорганизмов на поверхности клетки. Так, при цитологическом исследовании мазков буккального эпителия отмечено наличие бластоспор и псевдомицелия *C. albicans*, преобладающих в основной группе ($p=0,024$ и $p=0,011$). Кокковая флора, объединённая в микробные конгломераты, представлена стафилококками, стрептококками и диплококками и преобладает в группе с ВЗП (87,91; 67,03; 63,74% при $p=0,024$, $p < 0,001$, $p=0,002$ соответственно). В ходе оценки РАМ установлено, что во всех образцах выявлена РАМ+. Несмотря на это, неудовлетворительный показатель резистентности слизистой оболочки рта преобладал в 1-й группе (с ВЗП) (41,2%; $p=0,011$).

Индекс дифференцировки клеток в преобладающей степени оказался неудовлетворительным в обеих исследуемых группах (72,5%). Распределение по группам было следующим: удовлетворительный ИДК преобладал у здоровых пациентов (62,5%), в группе с пародонтитом он отмечен лишь у 13,4%. Неудовлетворительный индекс отмечался в группе с ВЗП (85,0%; $p < 0,001$).

Изучение степени ороговения слизистой оболочки рта (что характеризует её барьерную функцию) показало явное преобладание неудовлетворительных показателей в группе с ВЗП (88%; $p < 0,001$). Удовлетворительный уровень кератинизации в группе здоровых лиц составил 62,5% ($p < 0,001$). Результаты индексной оценки представлены в табл. 1.

Проведённое исследование выявило следующие цитологические нарушения буккальных эпителиоцитов. В группе пациентов с хроническим пародонтитом установлено наличие микроядер (88%), протрузий (71,6%), отмечены показатели пролиферации (двуядерные клетки 89,5%) и апоптоза (кариолизис — 10,4% и кариорексис — 26,8%). В контрольной группе отмечали наличие микроядер (87,5%), протрузии (29,2%) и двуядерных клеток (37,5%). Показателей деструкции ядер в данной группе не выявлено. Клеток с кариопикнозом не обнаружено ни в одной из групп (табл. 2).

В исследовании оценивали маркёры пародонтопатогенных микроорганизмов зубодесневого кармана, колонизирующих экосистему при пародонтите. У пациентов 1-й группы частота выявления пародонтопатогенных бактерий составила 86,6%. Наиболее часто (70,1%) выявляли маркёры *P. gingivalis*, в 41,8% случаев — *T. forsythia*, в 22,4% — *A. actinomycetemcomitans*, в 26,9% — *C. albicans*, в 11,9% — *P. intermedia*, в 6,0% — *T. denticola*.

Таблица 1. Индексная оценка клеток буккального эпителия в сравниваемых группах, %**Table 1.** Index score of buccal epithelial cells in the study groups, %

Показатель Indicator	Результат Result	Группа контроля Control group (n=24)	Пациенты с воспалительными заболеваниями пародонта Patients with inflammatory periodontal diseases (n=67)	p	χ^2
Индекс дифференцировки клеток Cell differentiation index	Неудовлетворительный Poor	37,5	85,0	<0,001	20,072
	Удовлетворительный Satisfactory	62,5	15,0		
Индекс кератинизации Keratinization index	Неудовлетворительный Poor	37,5	88,0	<0,001	38,270
	Удовлетворительный Satisfactory	62,5	12,0		
Реакция адсорбции микроорганизмов Microbial cell adsorption reaction	Удовлетворительный Satisfactory	87,5	58,7	0,011	6,473
	Неудовлетворительный Poor	12,5	41,2		

Интересной особенностью стало выявление ассоциаций пародонтопатогенных бактерий у 12 пациентов (17,8%): наиболее часто встречалась ассоциация пародонтопатогенных представителей 1-го порядка *P. gingivalis* с *A. actinomycetemcomitans* (13,4%).

Анализ полученных данных показал, что в группе контроля частота выявления пародонтопатогенных видов бактерий составила 29,2% — преимущественно пародонтопатогенных представителей 2-го порядка *P. intermedia* (20,8%) и *T. denticola* (8,3%). Ассоциации пародонтопатогенов и представители 1-го порядка в группе контроля не выявлены.

Для выделения связей между выявленными видами пародонтопатогенов и нарушениями клеток буккального

эпителия у представителей обеих групп был проведён корреляционный анализ цитоморфологических изменений клеток буккального эпителия (табл. 3), который показал, что в группе пациентов с хроническим пародонтитом установлена выраженная корреляционная зависимость средней и слабой степени между наличием клеток с цитоморфологическими нарушениями и определением *P. gingivalis*: клетки с микроядрами ($r=0,413$; $p < 0,001$), клетки с протрузиями ($r=0,228$; $p=0,029$), двуядерные клетки ($r=0,402$; $p < 0,001$) и показатели апоптоза ($r=0,283$; $p=0,006$ и $r=0,383$; $p < 0,001$). Положительные корреляции средней степени установлены между всеми исследуемыми цитоморфологическими нарушениями и выделением пародонтопатогена *T. forsythia*. Отмечены положительные

Таблица 2. Средние значения и пределы варьирования кариологических показателей буккальных эпителиоцитов в обследуемых группах, M±S**Table 2.** Mean values and limits of variation in the karyological parameters of buccal epithelial cells in the studied groups, M±S

Показатели (частота встречаемости) Indicators (rate of occurrence)	Группа контроля Control group (n=24)	Пациенты с воспалительными заболеваниями пародонта Patients with inflammatory periodontal diseases (n=67)	p
Клеток с микроядрами Cells with micronuclei	1,45±0,80	8,20±3,60	0,024
Клеток с протрузиями Cells with protrusions	0,29±0,46	3,40±3,35	0,043
Двуядерных клеток Binuclear cells	0,37±0,57	8,71±5,0	0,012
Клеток с кариорексисом Cells with karyorhexis	0,08±0,28	0,73±1,10	0,056
Клеток с кариолизисом Cells with karyolysis	0	0,58±1,23	0,062

Таблица 3. Корреляционная матрица цитоморфологических изменений клеток буккального эпителия и маркеров пародонтопатогенных микроорганизмов**Table 3.** Correlation matrix of cytomorphological changes in the buccal epithelial cells and markers of periodontopathogenic microorganisms

Показатели Indicators	Цитогенетические аномалии Cytogenetic abnormalities		Показатели пролиферации Proliferation indicators	Показатели апоптоза Apoptosis indicators	
	Наличие микроядер Micronuclei	Протрузия Protrusion	Наличие двухъядерных клеток Binuclear cells	Кариорексис Karyorhexis	Кариолизис Karyolysis
Пародонтит Periodontitis					
<i>P. gingivalis</i>	$r=0,4133$ ($p < 0,001$)	$r=0,2280$ ($p=0,029$)	$r=0,4026$ ($p < 0,001$)	$r=0,2831$ ($p=0,006$)	$r=0,3831$ ($p < 0,001$)
<i>T. forsythia</i>	$r=0,3528$ ($p < 0,001$)	$r=0,7858$ ($p < 0,001$)	$r=0,6666$ ($p < 0,001$)	$r=0,4135$ ($p < 0,001$)	$r=0,3745$ ($p < 0,001$)
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	$r=0,3332$ ($p=0,001$)	$r=-0,1147$ ($p=0,279$)	$r=0,2312$ ($p=0,027$)	$r=-0,0789$ ($p=0,457$)	$r=0,0510$ ($p=0,631$)
Ассоциации пародонтопатогенов Associations of periodontopathogens	$r=0,1090$ ($p=0,303$)	$r=0,3034$ ($p=0,003$)	$r=0,3522$ ($p < 0,001$)	$r=0,4482$ ($p < 0,001$)	$r=0,4867$ ($p < 0,001$)
Контроль Control					
<i>P. intermedia</i>	$r=-0,1624$ ($p=0,124$)	$r=-0,1892$ ($p=0,0725$)	$r=-0,2766$ ($p=0,008$)	$r=-0,2160$ ($p=0,039$)	$r=-0,1875$ ($p=0,075$)
<i>T. denticola</i>	$r=0,0812$ ($p=0,444$)	$r=0,0656$ ($p=0,536$)	$r=0,0732$ ($p=0,491$)	$r=0,1651$ ($p=0,117$)	$r=0,2351$ ($p=0,024$)

корреляции между выявлением клеток с наличием микроядер и наличием двухъядерных клеток с выделенным пародонтопатогеном *A. actinomycetemcomitans* ($r=0,333$; $p=0,001$ и $r=0,231$; $p=0,027$). Прямые корреляции средней степени установлены между выделением пародонтопатогенов в ассоциациях и наличием клеток с протрузиями, показателями пролиферации и апоптоза.

У обследованных контрольной группы выявлены отрицательные корреляции слабой силы между показателями пролиферации и апоптоза (кариорексис) с определением *P. gingivalis* ($r=-0,276$; $p=0,008$ и $r=-0,216$; $p=0,039$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ключевая функция клеток буккального эпителия в реакциях неспецифического и специфического реагирования иммунной системы делает их ключевыми клетками во взаимодействии с профессиональными индукторными и эффекторными клетками. Микробные факторы изменяют функциональный статус эпителиоцитов, включают их в образование порочных кругов, инициирующих хронический воспалительный процесс [14]. Присутствие стрептококков в цитологических препаратах относят к нормофлоре [9], однако увеличение количества адгезированных микроорганизмами клеток в цитограммах свидетельствует о снижении неспецифической резистентности организма

и повышении риска развития воспалительных заболеваний полости рта. Выявленные признаки митотической активности *C. albicans*, преобладание клеток с представителями кокковой флоры и микробных конгломератов, адгезированных на поверхностях эпителиоцитов, указывают на явное нарушение микробного равновесия в группе с ВЗП. Выявленное в нашем исследовании изменение уровня естественной колонизации эпителиоцитов может свидетельствовать об ослаблении колонизационной резистентности слизистой оболочки рта у лиц с пародонтитом, что находит отражение в работах исследователей из других регионов Российской Федерации [8, 10].

Неудовлетворительные результаты РАМ говорят о дестабилизации адаптационных механизмов — это потенциал для развития воспалительных реакций и в целом ослабление неспецифической резистентности как в полости рта, так и на системном уровне. Соответственно лица с неудовлетворительными результатами могут войти в группу риска с ослаблением колонизационной резистентности к условно-патогенным микроорганизмам, развитием дисбиоза, что в свою очередь может привести к развитию пародонтита либо значительно утяжелить его течение [2, 11].

Функциональный статус клеток буккального эпителия формируется в зависимости от степени их зрелости. Буккальные эпителиоциты представлены разными стадиями дифференцировки — от малодифференцированных

предшественников, расположенных в базальном слое и обеспечивающих обновление эпителиального пласта, до более дифференцированных клеток, смещающихся в поверхностные слои [4, 12, 15]. Преобладание парабазальных клеток отражает общее омоложение эпителиального пласта и преобладание процессов пролиферации, что свидетельствует о высокой активности регенераторного процесса [16].

Полученные результаты оценки ИК показывают, что в контрольной группе протекают естественные биологические процессы старения эпителиоцитов. В группе с ВЗП практически полное отсутствие безъядерных клеток свидетельствует о снижении репаративной регенерации клеток буккального эпителия.

При анализе показателей деструкции ядер статистически значимых различий между группами не выявлено. Однако незначительное повышение показателей в 1-й группе по сравнению с контрольной может свидетельствовать об активной элиминации повреждённых клеток в ответ на бактериальную инвазию [8, 17].

Микроядра образуются при нарушении клеточного деления или фрагментации ядра. К причинам возникновения аномалии можно отнести влияние инвазивных

свойств и факторов агрессии пародонтопатогенных бактерий, присутствующих при ВЗП.

В ходе анализа показателей цитологических нарушений при ВЗП по регионам Российской Федерации установлено, что частота встречаемости клеток с аномалиями в южных и центральных регионах ниже, чем в Арктической зоне. Так, по данным изучения микроядерного теста у пациентов с ВЗП в южных регионах Российской Федерации, микроядра встречались с меньшей частотой, как и кариорексис [8, 9, 18]. Увеличение числа клеток с выявленными микроядрами и протрузиями ядер является показателем генетических нарушений [10].

В нашем исследовании морфологические признаки нарушения пролиферации регистрировались в соскобах у лиц с ВЗП (рис. 1). Увеличение количества двуядерных клеток может свидетельствовать о повышении пролиферативной активности и усилении регенеративных процессов. Появление многоядерных эпителиоцитов чаще связывают с результатом слияния клеток друг с другом или нарушением процесса цитотомии, что в свою очередь может быть результатом влияния различных факторов, таких как стресс, микробная инвазия, воспалительные процессы в полости рта.

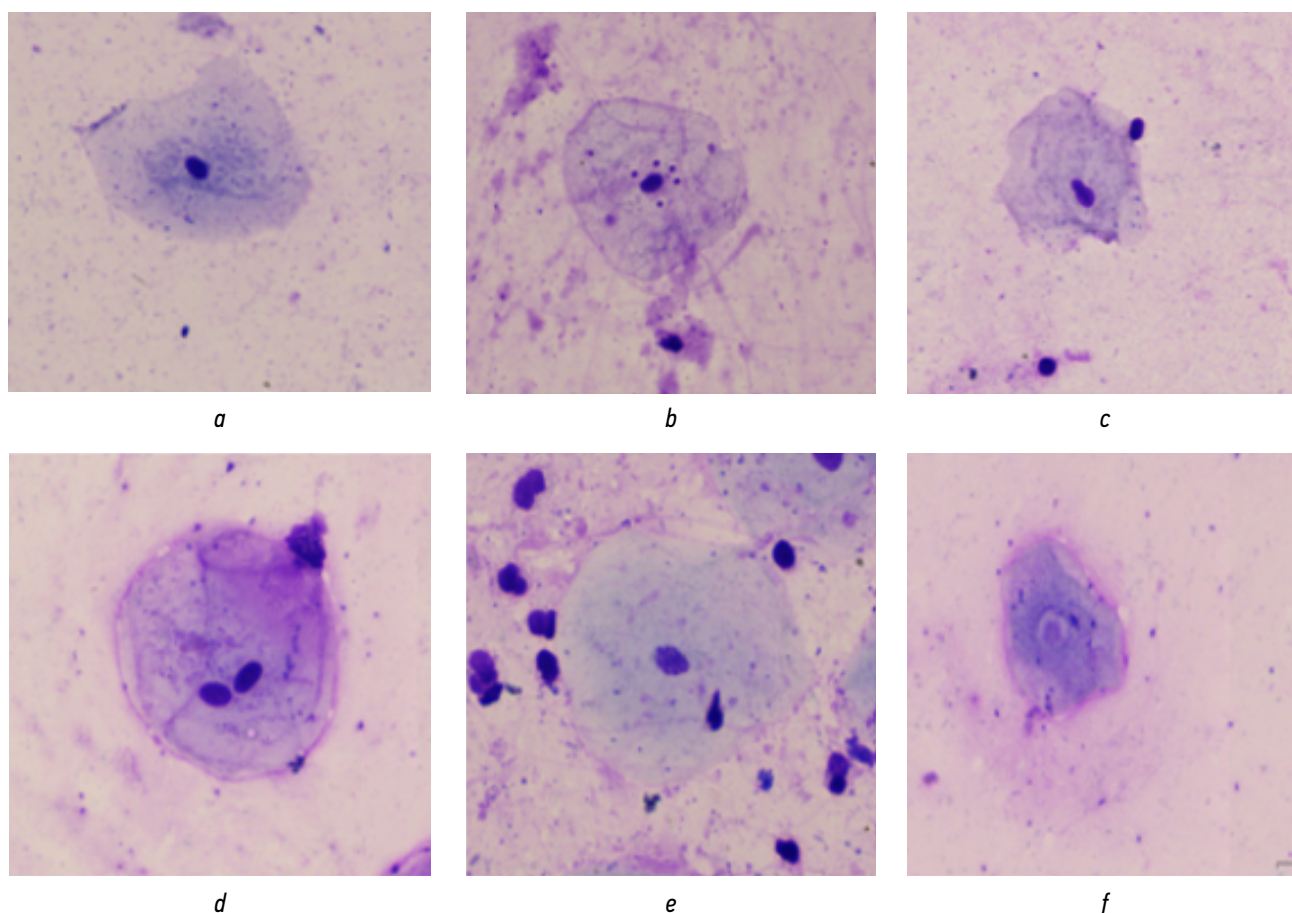


Рис. 1. Цитологические нарушения в клетках буккального эпителия пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта: *a* — норма; *b* — микроядра; *c* — протрузия; *d* — двуядерные клетки; *e* — кариорексис; *f* — кариолизис.

Fig. 1. Cytological abnormalities in the buccal epithelium cells of patients with inflammatory periodontal diseases: *a* — normal; *b* — micronuclei; *c* — protrusion; *d* — binuclear cells; *e* — karyorhexis; *f* — karyolysis.

Микробный фактор играет ведущую роль в возникновении и прогрессировании ВЗП, лежит в основе альтерации эпителиальной ткани, появления цитоморфологических аномалий и нарушения эндозекологического равновесия [9, 19].

Модуляция эпителиального барьера слизистой оболочки патогенными бактериями, по-видимому, является критическим шагом в инициации и прогрессировании заболеваний пародонта. Пародонтопатогены, такие как *P. gingivalis*, нарушают структурную и функциональную целостность эпителия слизистой оболочки рта; прикрепляясь к эпителиальным клеткам, проникают в них и размножаются, подавляя реакцию хозяина на бактериальные вызовы; инактивируя иммунные клетки и молекулы, активируют процессы, ведущие к разрушению тканей [20, 21]. *T. forsythia* почти всегда определяется в ассоциации с *P. gingivalis*. Некоторые авторы предполагают, что *T. forsythia* могут также проникать и существовать в эпителиальных клетках слизистой оболочки рта [7, 11]. Одним из факторов вирулентности *T. forsythia* является способность к цитотоксической активности и инициации апоптоза. *A. actinomycetemcomitans*, проникая в эпителиальные клетки, нарушает местный гомеостаз и защитную систему организма. Протеины *A. actinomycetemcomitans* (особенно лейкотоксин) индуцируют апоптоз иммунных клеток [9]. Представленные данные о выделенных пародонтопатогенах находят отражение в корреляционных взаимосвязях с цитоморфологическими аномалиями клеток буккальных эпителиоцитов, что свидетельствует о вовлечённости клеток слизистой оболочки рта в характер течения ВЗП. Адаптивная способность пародонтопатогенов, позволяющая им выживать в эпителиальных клетках и разрушать компоненты ткани пародонта, а также влиять на иммунный ответ организма, видимо, способствует возникновению и прогрессированию пародонтита. Вероятно, повышение частоты встречаемости цитологических аномалий клеток буккального эпителия в Арктической зоне Российской Федерации может быть следствием высокой частоты встречаемости пародонтопатогенов, а также действующих стрессорных факторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Воспаление пародонтальных тканей обеспечивается сдвигами эндозекологического равновесия: сочетанным действием пародонтопатогенных микробов, запускающим каскад иммунных реакций, которые приводят

к повреждению тканевого микроокружения, в первую очередь клеток буккального эпителия.

Инвазивные, адгезивные и токсические свойства маркерных пародонтопатогенов *P. gingivalis*, *T. forsythia* и их ассоциаций лежат в основе сдвигов процессов репаративной регенерации слизистой оболочки ротовой полости и регуляции местного иммунитета. Появление нетипичных эпителиальных клеток с микроядрами, протрузиями и многоядерных клеток, нарушение процессов дифференцировки и кератинизации свидетельствуют о снижении реактивности эпителиоцитов, угнетении местного и системного иммунного ответа на микробную инвазию.

Цитологическое исследование клеток буккального эпителия может быть рекомендовано в качестве оценки системных и локальных реакций организма в диагностике воспалительных заболеваний пародонта, а также являться одним из методов оценки эффективности лечебно-профилактических мероприятий при воспалительных заболеваниях пародонта.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Вклад авторов. А.С. Галиева внесла существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, получение, анализ и интерпретацию данных, подготовила первый вариант статьи; Н.В. Давидович внесла существенный вклад в концепцию исследования, анализ и интерпретацию данных, участвовала в подготовке первого варианта статьи; А.С. Оправин, Т.А. Бажукова, Е.Н. Башилова и Т.Ю. Гагарина участвовали в анализе данных, окончательно утвердили присланную в редакцию рукопись; Л.Л. Шагров внёс существенный вклад в анализ данных, проводил цитологическое исследование.

Authors contribution. A.S. Galieva made a significant contribution to the concept and design of the study, data acquisition, analysis, and interpretation, prepared the first version of the article; N.V. Davidovich made a significant contribution to the concept of the study, analysis, and interpretation of data, participated in the preparation of the first version of the article; A.S. Opravin, T.A. Bazhukova, E.N. Bashilova and T.J. Gagarina — participated in the analysis of the data, finally approved the manuscript sent to the editorial office; L.L. Shagrov — made a significant contribution to the analysis of data, conducted a cytological study.

Funding source. The project did not have financial support.

Финансирование исследования. Исследование проведено на личные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов отсутствует.

Competing interests. The authors declare that there is no conflict of interests.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Давидович Н.В., Соловьева Н.В., Галиева А.С., и др. Роль системы антимикробных пептидов в неспецифической защите полости рта при воспалительных заболеваниях пародонта // Клиническая лабораторная диагностика. 2021. Т. 66, № 7. С. 422–427. doi: 10.51620/0869-2084-2021-66-7-422-427
2. Дейнега А.Н., и др. Показатели естественной колонизации буккального эпителия у вегетарианцев. В кн.: Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: сборник статей. В 3 т. // IV Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы современной ме-

- дицинской науки и здравоохранения»; Апрель 10–12; 2019; Екатеринбург. Екатеринбург : УГМУ, 2019. Доступ по ссылке: http://elib.usma.ru/bitstream/usma/3984/1/USMU_Sbornik_statei_2019_1_257.pdf
3. Трифонов Н.И. Экспрессия белков p16, p21 и p53 в буккальном эпителии у людей разного возраста в норме и при хроническом пародонтите // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, № 3. С. 96–104. doi: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-10
 4. Hasiuk P., Hasiuk N., Kindiy D., et al. Characteristics of cellular composition of periodontal pockets // *Interv Med Appl Sci*. 2016. Vol. 8, N 4. P. 172–177. doi: 10.1556/1646.8.2016.4.5
 5. Зырянов Б.Н., Соколова Т.Ф. Адаптационные реакции и иммунитет у пришлого населения Крайнего Севера // Научный вестник Ямало-Ненецкого автономного округа. 2021. № 2 (111). С. 48–58. doi: 10.26110/ARCTIC.2021.111.2.003
 6. Sharma N., Bhatia S., Sodhi A.S., Batra N. Oral microbiome and health // *AIMS Microbiol*. 2018. Vol. 4, N 1. P. 42–66. doi: 10.3934/microbiol.2018.1.42
 7. Ушницкий И.Д., Иванов А.В., Иванова А.А., и др. Клинико-эпидемиологическая характеристика патологических процессов тканей пародонта воспалительно-деструктивного характера // Якутский медицинский журнал. 2018. № 1. С. 83–86. doi: 10.25789/УМЖ.2018.61.25
 8. Серикова О.В., Шумилович Б.Р., Филиппова З.А., и др. Микроядерный тест в десневом эпителии у лиц с хроническим пародонтитом // Вестник новых медицинских технологий. 2021. Т. 28, № 2. С. 10–14. doi: 10.24412/1609-2163-2021-2-10-14
 9. Царев В.Н., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В. Пародонтопатогенные бактерии — основной фактор возникновения и развития пародонтита // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2017. № 5. С. 101–112. doi: 10.36233/0372-9311-2017-5-101-112
 10. Колмакова Т.С., Белик С.Н., Моргуль Е.В., Севрюков А.В. Использование микроядерного теста для оценки эффективности лечения аллергии у детей. Ростов-на-Дону : Издательство РостГМУ, 2013. 31 с.
 11. Патент РФ на изобретение № 2210770 / 20.08.2003. Токмакова С.И., Бондаренко О.В., Сысоева О.В., Баштовой А.А. Способ определения состояния слизистой оболочки полости рта. Режим доступа: <http://www.freepatent.ru/patents/2210770>
 12. Куркин А.В., Тулеугаева С.Т., Есимова Р.Ж., Куриленко Н.Ю. Сравнительная характеристика цитогрaмм буккального эпителия в заключительный период ортодонтического лечения аномалий развития зубочелюстной системы у детей // *Universum: медицина и фармакология*. 2015. №12 (23). Режим доступа: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/2840>. Дата обращения: 14.03.2018.
 13. Гржибовский А.М., Унгуряну Т.Н., Горбатова М.А. Корреляционный и однофакторный линейный регрессионный анализ с использованием программного обеспечения SPSS и STATA // *Наркология*. 2017. Т. 16, № 9 (189). С. 52–69.
 14. Kornman K.S., Van Dyke T.E. Bringing light to the heat: “inflammation and periodontal diseases: a reappraisal” // *J Periodontol*. 2008. Vol. 79, N 8. P. 1313. doi: 10.1902/jop.2008.080240
 15. 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. Vol. 21, N 2. P. 224–228. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_152_16
 16. Landay M.A., Schroeder H.E. Differentiation in normal human buccal mucosa epithelium // *J Anat*. 1979. Vol. 128(Pt 1). P. 31–51.
 17. Молоканова Ю.П. Особенности цитоморфологии буккального эпителия курящих лиц юношеского возраста // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2017. № 1. С. 21–30. doi: 10.18384/2310-7189-2017-1-21-30
 18. Сахарук Н.А. Микробная флора полости рта в норме и патологии. Морфология грибов рода *Candida* // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2008. Т. 7, № 2. С. 137–143.
 19. Yamashita Y., Takeshita T. The oral microbiome and human health // *J Oral Sci*. 2017. Vol. 59, N 2. P. 201–206. doi: 10.2334/josnurd.16-0856
 20. Andrian E., Grenier D., Rouabhia M. Porphyromonas gingivalis-epithelial cell interactions in periodontitis // *J Dent Res*. 2006. Vol. 85, N 5. P. 392–403. doi: 10.1177/154405910608500502
 21. Rudney J.D., Chen R., Sedgewick G.J. Actinobacillus actinomycescetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, and Tannerella forsythensis are components of a polymicrobial intracellular flora within human buccal cells // *J Dent Res*. 2005. Vol. 84, N 1. P. 59–63. doi: 10.1177/154405910508400110

REFERENCES

1. Davidovich NV, Solovieva NV, Galieva AS, Lepeshkin SY, Bashilova EN, Pisareva SN, Bazhukova TA. Role of antimicrobial peptides system in inflammatory periodontal diseases non-specific oral cavity protection. *Klin Lab Diagn*. 2021;66(7):422–427. (In Russ). doi: 10.51620/0869-2084-2021-66-7-422-427
2. Deinega AN, et al. Indicators of natural colonization of buccal epithelium in vegetarians. In: *Topical issues of modern medical science and healthcare: collection of articles*. IV international scientific and practical conference «Actual issues of modern medical science and health care». 2019 April 10–12; Yekaterinburg. Yekaterinburg: Ural state medical university; 2019. (In Russ). Available from: http://elib.usma.ru/bitstream/usma/3984/1/USMU_Sbornik_statei_2019_1_257.pdf
3. Trifonov NI. Expression of proteins p16, p21 and p53 in buccal epithelium in people of different ages in normal and chronic periodontitis. *Research results in biomedicine*. 2018;4(3):96–104. (In Russ). doi: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-10
4. Hasiuk P, Hasiuk N, Kindiy D, et al. Characteristics of cellular composition of periodontal pockets. *Interv Med Appl Sci*. 2016;8(4):172–177. doi: 10.1556/1646.8.2016.4.5
5. Zyryanov BN, Sokolova TF. Adaptive reactions and immunity in the newcomers of the Far North. *Scientific bulletin of the Yamal-Nenets autonomous district*. 2021;(2(111)):48–58. (In Russ). doi: 10.26110/ARCTIC.2021.111.2.003
6. Sharma N, Bhatia S, Sodhi AS, Batra N. Oral microbiome and health. *AIMS Microbiol*. 2018;4(1):42–66. doi: 10.3934/microbiol.2018.1.42

7. Ushnitsky ID, Ivanov AV, Ivanova AA, et al. Clinical and epidemiological characteristics of pathological processes of periodontal tissues of an inflammatory and destructive nature. *Yakut Medical Journal*. 2018;(1(61)):83–86. (In Russ). doi: 10.25789/YMJ.2018.61.25
8. Serikova OV, Shumilovich BR, Filippova ZA, et al. Micronuclear test in gingival epithelium in persons with chronic periodontitis. *Journal of new medical technologies*. 2021;28(2):10–14. doi: 10.24412/1609-2163-2021-2-10-14
9. Tsarev VN, Nikolaeva EN, Ippolitov EV. Periodontopathogenic bacteria are the main factor in the occurrence and development of periodontitis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii [Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology]*. 2017;(5):101–112. (In Russ).
10. Kolmakova TS, Belik SN, Morgul' EV, Sevryukov AV. *Using a micronuclear test to evaluate the effectiveness of allergy treatment in children*. Rostov-on-Don: Izdatel'stvo RostGMU; 2013. 31 p. (In Russ).
11. Patent RUS N 2210770/20.08.2003. Tokmakova SI, Bondarenko OV, Sysoeva OV, Bashtova AA. *Method for determining the state of the oral mucosa*. Available from: <http://www.freepatent.ru/patents/2210770>. (In Russ).
12. Kurkin AV, Tuleutaeva ST, Esimova RZh, Kurilenko NYu. Comparative characteristics of cytograms of buccal epithelium in the final period of orthodontic treatment of anomalies in the development of the dental system in children. *Universum: medicine and pharmacology*. 2015;(12 (23)). Available from: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/2840>. (In Russ).
13. Grzhibovskii AM, Unguryanu TN, Gorbatova MA. Correlation and one-factor linear regression analysis using SPSS and STATA software. *Narcology*. 2017;16(9(189)):52–69. (In Russ).
14. Kornman KS, Van Dyke TE. Bringing light to the heat: "inflammation and periodontal diseases: a reappraisal". *J Periodontol*. 2008;79(8):1313. doi: 10.1902/jop.2008.080240
15. 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):224–228. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_152_16
16. Landay MA, Schroeder HE. Differentiation in normal human buccal mucosa epithelium. *J Anat*. 1979;128(Pt 1):31–51.
17. Molokanova YuP. Cytomorphological features of buccal epithelial cells in smoking youths. *Bulletin of the Moscow state regional university (natural sciences)*. 2017;1:21–30. (In Russ). doi: 10.18384/2310-7189-2017-1-21-30
18. Sakharuk NA. The microbial flora of the oral cavity normal and pathological. Morphology of fungi of the genus *Candida*. *Vestnik of Vitebsk state medical university*. 2008;7(2):137–143. (In Russ).
19. Yamashita Y, Takeshita T. The oral microbiome and human health. *J Oral Sci*. 2017;59(2):201–206. doi: 10.2334/josnusd.16-0856
20. Andrian E, Grenier D, Rouabhia M. Porphyromonas gingivalis-epithelial cell interactions in periodontitis. *J Dent Res*. 2006;85(5):392–403. doi: 10.1177/154405910608500502
21. Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ. Actinobacillus actinomyces-comitans, Porphyromonas gingivalis, and Tannerella forsythensis are components of a polymicrobial intracellular flora within human buccal cells. *J Dent Res*. 2005;84(1):59–63. doi: 10.1177/154405910508400110

ОБ АВТОРАХ

***Александра Сергеевна Галиева**, ассистент;
адрес: Россия, 163069, Архангельск, пр. Троицкий, 51;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7037-7730>;
eLibrary SPIN: 3054-9139; e-mail: alexgalieva@yandex.ru

Наталья Валерьевна Давидович, к.м.н., доцент;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6414-9870>;
eLibrary SPIN: 5230-2125; e-mail: nvdavidovich@gmail.ru

Александр Сергеевич Оправин, д.м.н., профессор;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0057-3357>;
eLibrary SPIN: 7270-2960; e-mail: opravinas@nsmu.ru

Татьяна Александровна Бажукова;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7890-2341>;
eLibrary SPIN: 2220-2151; e-mail: tbazhukova@yandex.ru

Леонид Леонидович Шагров, младший научный сотрудник;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2655-9649>;
eLibrary SPIN: 3842-2145; e-mail: leonidshagrov@mail.ru

Елена Николаевна Башилова;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9247-6633>;
eLibrary SPIN: 9526-8284; e-mail: ebashilova@mail.ru

Татьяна Юрьевна Гагарина, к.м.н., доцент;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3071-4146>;
eLibrary SPIN: 3594-2167; e-mail: gagarlic@mail.ru

AUTHORS INFO

***Aleksandra S. Galieva**, assistant lecturer;
address: 51, Troickij avenue, 163069, Arhangel'sk, Russia;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7037-7730>;
eLibrary SPIN: 3054-9139; e-mail: alexgalieva@yandex.ru

Natalija V. Davidovich, Cand. Sci. (Med.), assistant professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6414-9870>;
eLibrary SPIN: 5230-2125; e-mail: nvdavidovich@gmail.ru

Aleksandr S. Opravin, Dr.Sci. (Med.), professor;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0057-3357>;
eLibrary SPIN 7270-2960; e-mail: opravinas@nsmu.ru

Tat'jana A. Bazhukova;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7890-2341>;
eLibrary SPIN: 2220-2151; e-mail: tbazhukova@yandex.ru

Leonid L. Shagrov, junior research associate;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2655-9649>;
eLibrary SPIN: 3842-2145; e-mail: leonidshagrov@mail.ru

Elena N. Bashilova;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9247-6633>;
eLibrary SPIN: 9526-8284; e-mail: ebashilova@mail.ru

Tat'jana J. Gagarina, Cand. Sci. (Med.), assistant professor;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3071-4146>;
eLibrary SPIN: 3594-2167; e-mail: gagarlic@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author