

## КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА С ПОМОЩЬЮ СОВРЕМЕННЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕТОДИК

Бердникова Е. И., Ревюк Ю. В., Ткаченко Т. Б., Шевелева Н. Ю.

*Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И. П. Павлова*

Слизистая оболочка полости рта – одна из важнейших систем организма, которые осуществляют барьерную функцию в отношении действия патогенных биологических, физических и химических факторов. При этом слизистая оболочка данной локализации существенно отличается от других слизистых оболочек как морфологически, так и гистохимически. Статья посвящена изучению особенностей слизистой оболочки полости рта, выявляемых у здоровых лиц и пациентов с стоматологической и общесоматической патологией, с помощью современных методов обследования на примере 220 обследованных. Кроме того, авторы приводят данные о результатах гистологического анализа 720 образцов слизистой оболочки полости рта, отражающие возможные морфологические признаки возрастных изменений и проявлений сопутствующих заболеваний. Исследования отражают возможные морфологические признаки возрастных изменений и проявлений сопутствующих заболеваний.

Ключевые слова: слизистая оболочка полости рта, морфология, методы обследования.

## THE COMPLEX OF THE MODERN DIAGNOSTIC METHODS TO INVESTIGATION OF THE ORAL MUCOSA

Berdnikova E. I., Revyuk Y. V., Tkachenko T. B., Sheveleva N. Y.

*St. Petersburg State Medical University named after acad. Pavlov*

The mucous membrane of the mouth – one of the major body systems that perform a barrier function against pathogenic action of biological, physical and chemical factors. In this case, the mucosa of this localization is very different from other mucous membranes both morphologically and histochemically. The paper studies the characteristics of the oral mucosa, detected in healthy individuals and patients with dental and somatic disorders using modern methods of testing for example, 220 patients. In addition, the authors present data on the results of the histological analysis 720 samples of oral mucosa to reflect possible morphological manifestations of aging and related diseases. Studies reflect the possible morphological manifestations of aging and related diseases.

Keywords: oral mucosa, morphology, methods of the investigation.

Слизистая оболочка полости рта – одна из важнейших систем организма, которые осуществляют барьерную функцию в отношении действия патогенных биологических, физических и химических факторов [1, 2]. При этом слизистая оболочка данной локализации существенно отличается от других слизистых оболочек как морфологически, так и гистохимически [9].

Современный взгляд на изменения, происходящие в слизистой оболочке полости рта (СОПР) с возрастом, на фоне стоматологических заболеваний и в результате поражения внутренних органов и систем, предполагает совершенствование экспресс-методик, которые всеобъемлюще охарактеризовали бы состояние слизистой оболочки (СО) [1, 3, 4, 5, 7, 8], является актуальной задачей. Большой интерес также представляют малоинвазивные техники, не нарушающие целостность эпителиальных барьеров, с одной стороны, но являющиеся достойной альтернативой «золотому стандарту» диагностики заболеваний СОПР – биопсии, с другой стороны.

Целью работы является оценка информативности современных диагностических методик, имеющихся в арсенале стоматологов, при выявлении и лечении заболеваний СОПР.

В исследовании выделялось 2 этапа: на первом – оценивались результаты гистологического анализа секционного материала. Было изучено 720 образцов срезов СОПР, взятых у умерших в возрасте от 25 до 84 лет.

Объектом исследования был участок СОПР размером 1×3 см, взятый на всю толщину (до подслизистого слоя) в области перехода прикрепленной слизистой оболочки альвеолярного отростка верхней или нижней челюсти в слизистую оболочку щеки или губы. Были изготовлены срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилин–эозином по методам Ван-Гизон, Маллори, Шпильмеера, импрегнировали по методу Фута, а также проводили непрямые иммунопероксидазные реакции, направленные на выявление лейкоцитов – реакцию с общим лейкоцитарным антигеном (*LCA*), Т и В лимфоцитов – (CD3 и CD20 соответственно), Т-хелперов (CD-4), Т-супрессоров (CD-8), натуральных киллеров (CD-56). Изучение и фотосъемка проводилась с помощью видеосистемы фирмы *Leica* и видеотеста «Мастер Морфология». Для морфометрического исследования толщины эпителия с помощью системы *Leica* (микроскоп, фотокамера и компьютер) были сняты по пять полей зрения в каждом препарате, и в каждом поле зрения подсчитывалось по пять максимальных и минимальных величин количества слоев и разница между ними ( $\Delta$ ). Для определения митотической активности было подсчитано количество клеток в базальном слое и среди них клеток, давших положительную реакцию с К-67, высчитывался процент клеток в состоянии митотической активности.

На втором этапе использовали комплексный анализ состояния СОПР здоровых лиц и пациентов с сопутствующей соматической патологией и повреждениями СОПР, применяя современные неинвазивные методики. Обследование состояния проводилось СОПР у 220 женщин от 20 до 72 лет, имеющих острую механическую травму СОПР и губ, которую, после устранения причины повреждения, лечили «Солкосерил дентальной адгезивной пастой» производства фирмы «Валеант Фармасьютикал» (Швейцария). Объектом исследования служили участки СОПР, наиболее доступные для исследования, а также максимально часто травмируемые области слизистой оболочки щек и губ. Для оценки морфологии СОПР *in vivo* использовали медицинскую ультразвуковую диагностическую установку *DermaScan C Ver.3 Cortex Technology, Smedevaenget 10 9560 Hadsund (Denmark)*. Для визуализации структуры СОПР использовали датчик прибора с частотой сигнала 20 МГц. Для оценки эластичности и упругости СОПР (определение основных индексов, характеризующих упруго-эластические свойства СОПР) применяли *Cutometer MPA 580 SK electronic* (Германия, Кельн) с действием отрицательного давления в измерительной головке

прибора 450–500 мбар. С целью определения барьерной функции СОПР проводили оценку трансэпидермальной потери влаги методом ТЭПВ-метрии с помощью прибора *Tewameter, SK electronic* (Германия, Кельн). В связи с тем, что в нормальных условиях при сохраненном носовом дыхании максимальная потеря влаги в области СОПР и губ происходит в области нижней губы, измерения ТЭПВ проводили именно в этом участке СОПР.

Все полученные результаты были математически обработаны в несколько этапов. На первом этапе получения результатов обследования состояния СОПР и губ на измерительных приборах информацию обрабатывали программным обеспечением самого прибора. На втором этапе все полученные данные обрабатывали методами математической статистики путем сравнения объективных показателей СОПР пациенток разных возрастных групп, а также сравнения параметров, характеризующих СОПР до и после проведенного лечения. Первой задачей исследования являлось выявление корреляционных зависимостей между показателями состояния СОПР (толщина СОПР (*thickness*), трансэпидермальная потеря влаги (*TEPW*), индекс общей эластичности СОПР (*Elldx*), коэффициент упругости СОПР (*R5*), коэффициент вязко-упругих свойств СОПР (*R6*), коэффициент восстановления эластических свойств СОПР (*R7*)) и целевыми показателями (сроками поверхностной эпителизации СОПР при травме (*TSE*) и сроками глубокой регенерации СОПР (*RTDMC*)).

Так как при анализе выборки признаков данные являются порядковыми и количественными, то для решения использовали коэффициент Круска-Уоллиса, применяемый при работе с разнородными данными [6]. В ходе светооптического изучения образцов оценивали общую толщину СОПР, данные по анализу приведены в таблице 1, количество рядов клеток эпителия, степень зрелости клеток на поверхности эпителиального пласта, сохранность и целостность базальной мембраны, толщину герментативного слоя, особенности архитектоники собственной пластинки слизистой оболочки, наличие или отсутствие клеточной инфильтрации в образце, количество митозов в эпителиальных клетках.

Таблица 1. Количество слоев эпителиоцитов и клеток эпителия в состоянии митоза в базальном слое, в образцах слизистой оболочки полости рта умерших от травмы без сопутствующей соматической патологии

Показатель	№ иссл.	Минимальное количество слоев	Максимальное количество слоев	Δ значения количества слоев эпителия	Количество клеток эпителия в состоянии митоза в базальном слое, %	
Возраст- ная группа	21-30 лет	41	30,7±0,04	33,6±0,17	2,9	26,2±0,01
		61	21,6±0,7	26,2±0,6	4,6	12,1±0,01
		89	31,6±0,21	38,3±0,2	6,7	18,4±0,03
51-60 лет	31	22,9±0,03	33,5±0,016	10,5	6,9±0,06*	
	82	23,5±0,46	41,5±0,01	18	7,1±0,03*	

где: \*–  $p < 0,05$  по сравнению с показателем в образцах слизистой оболочки полости рта умерших в возрасте 21–30 лет.

По толщине эпителия у погибших первой возрастной группы (21–30 лет) достоверных различий не наблюдалось (табл. 1), аналогичные данные получены и у одного погибшего в старшей возрастной группе. Только у умершего (№ иссл. 82), где при микроскопическом исследовании обращали на себя внимание явления акантоза и гиперкератоза, толщина эпителия и морфометрически была значительно выше и составила минимум –  $23,1 \pm 0,46$ , а максимум –  $41,1 \pm 0,01$  слоев ( $\Delta$ - 18), по сравнению с 24–27 слоями у остальных погибших, этот случай был исключен из группы контроля.

Во всех препаратах с непрямой иммунопероксидазной реакцией, направленной на выявление пролиферативной активности (К-67), были найдены эпителиоциты в различных стадиях митотической активности. У погибших возрастной группы 21–30 лет количество клеток в состоянии митоза составило 11,6 % и 26,2 %, а у умершего в старшей возрастной группе (51–60 лет) – лишь 6,7 % клеток. Небольшое количество наблюдений не позволяет нам утверждать, что это закономерность, но можно отметить наличие тенденции к снижению с возрастом митотической активности эпителия.

По толщине эпителия у погибших первой возрастной группы (21–30 лет) достоверных различий не наблюдалось, аналогичные данные получены и у одного погибшего в старшей возрастной группе. Во всех препаратах с непрямой иммунопероксидазной реакцией, направленной на выявление пролиферативной активности (К-67), были найдены эпителиоциты в различных стадиях митотической активности. У погибших возрастной группы 21–30 лет процент клеток в состоянии митоза составил 12,13 % и 26,2 %, а у умершего в старшей возрастной группе лишь 6,9 % клеток. Небольшое количество наблюдений не позволяет нам утверждать, что это закономерность, но можно отметить наличие тенденции к снижению с возрастом митотической активности эпителия.

Исследование препаратов после проведения непрямых иммунопероксидазных реакций, направленных на выявление лейкоцитов показало, что во всех случаях в собственной пластинке слизистой и в подслизистом слое имело место умеренное количество макрофагов (положительная реакция с CD-68) и Т-лимфоцитов (CD-3), представленных преимущественно, Т-супрессорами (CD-8), которые располагались не только в подслизистом слое, но и между клетками эпителия.

Морфологическое исследование слизистой оболочки полости рта показало, что у погибших от травмы без соматической и стоматологической патологии людей, имеющих сохраненные зубные ряды, пласт эпителия выражен хорошо и составляет 24–27 слоев клеток, базальная поверхность эпителия извита. Собственная пластинка слизистой гомогенная, состоит из плотно скомпонованных коллагеновых волокон с небольшим количеством капилляров и диффузно расположенными макрофагами и Т-лимфоцитами. Однако наличие

даже единичных включенных дефектов зубного ряда может сопровождаться изменениями слизистой оболочки полости рта.

По анализу патологоанатомических заключений о причине смерти больных, основную группу выборки умерших в нашем исследовании составили скончавшиеся от сердечно-сосудистой патологии в возрасте от 41 до 80 лет. Состояние слизистой оболочки полости рта при патологии сердечно-сосудистой системы во всех возрастных группах достоверно не отличалось. В 15 % случаев состояние слизистой оболочки было расценено как нормальное. В каждой возрастной группе было одно наблюдение, где эпителий слизистой хорошо выражен (min – 27,6 слоев; max – 35,4 слоев), иногда даже с явлениями гиперкератоза.

Проведенное морфологическое и морфометрическое исследование показало, что прямой корреляции явлений атрофии слизистой оболочки и уменьшения ее митотической активности с возрастом больных с сердечно-сосудистой патологией было не выявлено. В каждой из исследованных возрастных групп имели место случаи хорошо выраженной слизистой оболочки, без каких-либо признаков ее атрофии – максимальный возраст в нашей работе – 88 лет. В то же время, даже в возрастной группе 51–60 лет были наблюдения со значительной атрофией эпителия, собственной пластинки и подслизистого слоя. Причем не во всех случаях эти процессы шли параллельно, так иногда достаточно сохранный эпителий располагался над практически отсутствующей соединительной тканью собственной пластинки и подслизистого слоя. Воспалительная инфильтрация встречалась у умерших от сердечно-сосудистой патологии в 16,7 % наблюдений и также не коррелировала с возрастом больных. Возможно, причиной ее появления были местные воспалительные заболевания СОПР, не связанные с основным соматическим заболеванием. Различий, связанных с полом, в гистологической картине препаратов выявлено не было.

Особенностью изменения слизистой оболочки полости рта при алкоголизме является наличие в половине случаев некрозов, преимущественно в собственной пластинке слизистой оболочки, без выраженной воспалительной реакции в образцах. В связи с тем, что в образцах этих больных найдена выраженная аксоно- и миелинопатия, можно предположить, что некрозы носят нейротрофический характер.

У умерших от онкологических процессов в возрасте от 61 до 80 лет эпителий слизистой оболочки во всех случаях был атрофирован, иногда значительно. Собственная пластинка слизистой оболочки была истончена, подслизистый слой представлен преимущественно рыхло расположенными аргирофильными волокнами. В 66,7 % наблюдений имела место очаговая или диффузная воспалительная инфильтрация, преимущественно за счет лимфоцитов и макрофагов. Кроме того, были выявлены дистрофические изменения в нервных волокнах и мышцах.

Таким образом, морфологическая характеристика дает четкое представление об происходящих изменениях СОПР с возрастом и при патологии, которые носят индивидуальный характер. Однако забор секционного материала (биопсия) выполняется только лишь по узкому кругу показаний и не может являться рутинным методом диагностики текущего состояния СОПР.

Во втором исследовании все пациенты были разделены на две группы: 1 группу контроля составили женщины без изменений СОПР (35 чел.), 2 группу составили пациентки с острой механической травмой СОПР в области губ и/или щек (185 чел.). Результаты средних показателей толщины СОПР губ и щек обследованных, полученных при ее сканировании, представлены в таблице 2.

Таблица 2. Толщина эпителия слизистой оболочки губ и щек у пациенток групп обследования по результатам ультразвукового сканирования

Группа пациентов	Толщина эпителия, мкм				
	Возраст, лет				
	20–39	40–49	50–59	60–69	70 и старше
Контроль	515±0,6	498±0,2	476±0,35	437±0,25*	435±0,25*
Основные группы: без сопут. патологии	524±0,87	475±0,12	470±0,7	430±0,07*	432±0,01*
С заболеваниями ССС	460±0,07**	400±0,98**	399±0,1**	375±0,07**	380±0,12**
С заболеваниями ЖКТ	470±0,77**	455±1,2 **	501±0,8**	406±0,9**	408±0,07**

где: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с показателем у пациенток группы 20–39 лет; \*\* –  $p < 0,05$  по сравнению с показателем у пациенток без сопутствующей соматической патологии; ССС – сердечно-сосудистая система; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт.

При проведении анализа полученных данных выявили следующие закономерности: толщина СОПР в изучаемых областях у женщин достоверно снижается с возрастом; наличие в анамнезе сопутствующей соматической патологии приводит к более интенсивному истончению СОПР по мере увеличения возраста обследуемых, особенно при заболеваниях сердечно-сосудистой системы (чаще всего (70 % случаев) ишемической болезни сердца (ИБС) и гипертонической болезни (ГБ)).

Изучение упруго-эластических свойств СОПР и губ не обнаружил достоверной разницы в основных определяемых индексах у пациенток с отягощенным соматическим анамнезом и практически здоровых лиц, в связи с чем, сведения о них были объединены в таблице 2 в графе «Основные группы». Кроме того, не было выявлено зависимости упруго-эластических свойств СОПР от возраста обследуемых, таким образом, можно сказать, что полученные значения измеряемых индексов носили индивидуальный характер (табл. 3).

Таблица 3. Результаты оценки упруго-эластических свойств слизистой оболочки полости рта и губ пациенток групп обследования

Показатель	Участок измерения	Группа контроля	Основные группы
------------	-------------------	-----------------	-----------------

R2 (Ua/Uf) – параметр общей эластичности	СОПР	0,76±0,04	0,77±0,01*
R5 (Ur/Ue) – коэффициент чистой упругости	СОПР	0,73±0,03	0,7±0,05*
R6 (Uv/Ue) – коэффициент вязко-упругости	СОПР	0,42±0,02	0,39±0,06*
R7 (Ur/Uf) – коэффициент восстановления эластичности	СОПР	0,57±0,07	0,51±0,07*

где:\* –  $p > 0,05$  по сравнению с группой контроля

Что касается трансэпидермальной потери влаги, измеренной в области нижней губы, то показатели ее имели достаточно стабильные показатели в разных возрастных группах и демонстрировали лишь тенденцию несколько повышаться в период с 40 до 59 лет, особенно у пациенток с сопутствующей патологией желудочно-кишечного тракта. На наш взгляд, это может быть связано с особенностями гормонального фона в указанном возрастном периоде.

Проанализировав исходное состояние СОПР в группах обследования, интересным является выявление изменения измеренных показатели СОПР на способность ее к восстановлению после механического повреждения. Наблюдение за динамикой заживления СОПР у пациенток, применяющих «Солкосерил дентальную адгезивную пасту», по схеме 2 раза в день в виде аппликаций в области повреждения после гигиенической чистки зубов и ополаскивания полости рта. Помимо традиционного стоматологического осмотра, дополнительно выявляли изменения в глубоких слоях СОПР по данным ультразвукового сканирования, что позволило выявить определенные закономерности по срокам регенерации слизистой оболочки.

Средние сроки нормализации состояния СОПР и губ в глубоких слоях после лечения острой травмы (по данным УЗ сканирования) в основной группе составили 11,5 дней. Особое внимание обращала на себя возрастная группа 50–59 лет, так как именно в этой группе отмечался «скачок» в пролонгации течения патологического процесса, связанный, на наш взгляд, с базовым состоянием СОПР в этот период. «Худшие» показатели демонстрировали пациентки в возрасте 60–69 лет.

В результате статистического анализа было обнаружено, что наиболее информативными признаками, влияющими на вариацию значений показателей сроков поверхностной эпителизации (*TSE*), можно было считать толщину СОПР и трансэпидермальную потерю влаги вне зависимости от возраста и сопутствующей соматической патологии обследованных. Менее существенное влияние оказывали показатели R5, R6, R7 СОПР. В то же время, для сроков глубокой регенерации СОПР (*RTDMC*), все упомянутые показатели являлись высоко значимыми.

Проведенное исследование показало, что УЗ сканирование СОПР отражает морфологическую картину структуры СО. Возрастные особенности СОПР носят индивидуальный характер, проявляются в тенденции к истончению слизистой оболочки, без

значимых изменений параметров эластичности и трансэпидермальной потери влаги. Аналогичные изменения подтверждаются морфологическими исследованиями. На состояние СОПР негативное влияние оказывают сопутствующая общесоматическая патология, в частности заболевания сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта. Неблагоприятным возрастным периодом по потере влаги СОПР у женщин является период от 50–59 лет. При использовании традиционной эпителизирующей терапии при лечении механической травмы СОПР сроки поверхностной регенерации СОПР опережают восстановление глубоких слоев в среднем на 5–7 дней. Исходное состояние СОПР оказывает влияние на вариацию процесса восстановления СОПР, при этом наиболее информативными для поверхностной эпителизации (TSE) является толщина СОПР и трансэпидермальная потеря влаги, а для сроков глубокой регенерации СОПР (RTDMC) все измеренные в исследовании показатели индивидуального состояния СОПР у женщин.

*Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.*

#### Список литературы

1. Алимов А. С. Строение поверхности слизистой оболочки протезного ложа в норме и у больных с последствиями мозгового инсульта под сканирующим электронным микроскопом // Стоматология. – 2000. – № 2. – С. 31–33.
2. Банченко Г. В., Максимовский Ю. М., Гринин В. М. Язык – «зеркало» организма. – М., 2000. – 407 с.
3. Беленчук Т. А. Возрастные изменения слизистой оболочки полости рта // I съезд геронтологов и гериатров Украинской ССР: Тез. докл. – Днепропетровск, 1988. – 15 с.
4. Быков В. Л. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта // Стоматология. – 1997. – № 3. – С. 12–17.
5. Гемонов В. В. и др. Некоторые особенности реактивности органов полости рта у животных с разными типами нервной системы / Гемонов В.В., Кутвицкая С.А., Черо О. Е. и др. // Стоматология. – 1996. – № 1. – С. 12–14.
6. Григорьев С. Г. и др. Многомерные методы статистического анализа категоризованных данных медицинских исследований. – СПб.: ВМА, 2002. – 103 с.
7. Данилевский Н. Ф., Леонтьев В. К., Несин А. Ф., Рахний Ж. И. Заболевания слизистой оболочки полости рта. – М.: ОАО «Стоматология», 2001. – 271 с.
8. Johnson H. A. Relations between normal aging and disease. – N.York, 1985. – 256 p.



9. Sasaki M. Histomorphometric analysis of age-related changes in epithelial thickness and Langerhans cell density of the human tongue // Tohoku J. Exper. Med. – 1994. – Vol. 173. – P. 321–336.

**Рецензенты:**

Сарвилина Ирина Владиславовна, д.м.н., ген. директор медицинского центра «Новомедицина», ведущий научный сотрудник ЗАО НПО «Европа-Биофарм», г. Ростов-на-Дону.

Масляков Юрий Степанович, д.м.н., профессор, зав. кафедрой «Фармокология и клиническая фармакология» ГБОУ ВПО «РостГМУ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.