

УДК 616.312.2:611.018.7

## УЛЬТРАСТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ДЕСНЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГИНГИВИТЕ

Лушников Е.Л., Непомнящих Л.М., Осольский Г.И., Загородний А.С.,  
Щеглов А.В., Юркевич Н.В.

*НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН,  
Новосибирск, e-mail: pathol@soramn.ru*

Проведено ультраструктурное исследование слизистой оболочки десны при хроническом гингивите. Установлено, что хроническое воспаление обуславливает значительную внутриклеточную реорганизацию эпителиоцитов базального и шиповатого слоев эпителия десны, их выраженную структурно-функциональную гетерогенность. К ведущим ультраструктурным изменениям эпителиоцитов базального и шиповатого слоев относятся значительная вакуолизация перинуклеарной зоны (парциальный некроз), образование толстых пучков тонофиламентов, очаговый лизис и секвестрация гликогена, нарушение и редукция межклеточных контактов с развитием в ряде случаев акантолитических изменений. Хронический воспалительный процесс вызывает выраженное ремоделирование собственной пластинки слизистой оболочки десны: мультпликацию базальной мембраны и obturацию кровеносных сосудов коллагеновыми волокнами.

**Ключевые слова:** хронический гингивит, десна, ультраструктура, стереология

## ULTRASTRUCTURAL STUDY OF GINGIVAL EPITHELIOCYTES IN CHRONIC GINGIVITIS

Lushnikova E.L., Nepomnyashchikh L.M., Oskolsky G.I., Zagorodnii A.S.,  
Shcheglov A.V., Yurkevich N.V.

*Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology SD RAMS, Novosibirsk,  
e-mail: pathol@soramn.ru*

Ultrastructural reorganization of gingival mucosa has been studied in patients with chronic gingivitis. It is demonstrated that chronic inflammation causes a significant intracellular reorganization resulting in structural and functional heterogeneity of basal and tubercular layer epitheliocytes. The most typical ultrastructural phenomena include prominent vacuolization of perinuclear zone (partial necrosis), formation of thick bundles of tonofilaments, focal lysis and sequestration of glycogen, destruction and reduction of intracellular junctions – in some cases associated with acantholytic changes. Chronic inflammatory process in gingival mucosa induces extensive remodeling of lamina propria: multiplication of basal membrane and obturation of blood vessels by collagen fibrils.

**Keywords:** chronic gingivitis, gingiva, ultrastructure, stereology

Хронические гингивиты относятся к наиболее часто встречающимся поражениям десны как у детей, так и у взрослых. Распространенность гингивитов возрастает, начиная приблизительно с 5 лет, достигает пика в подростковом возрасте и остается высокой на протяжении всей жизни. В развитии воспалительных процессов в полости рта большую роль отводят местным факторам, микрофлоре (особенно зубных бляшек), неблагоприятным воздействиям (в частности, табакокурению, ксенобиотикам) [4, 6, 8]. Микроорганизмы зубной бляшки, расположенные на поверхности зубов, инициируют воспалительные процессы в тканях пародонта, способствуют прогрессированию патологических процессов, образованию пародонтальных карманов [2, 9].

Прогнозирование и ранняя диагностика заболеваний пародонта и слизистой оболочки полости рта зачастую основаны на клинических симптомах и данных визуального осмотра. Однако клинические проявления воспалительных процессов в тканях пародонта, в частности, десны не всегда коррелируют с выраженностью патоморфологических из-

менений. Отсутствие сведений о характере и выраженности ремоделирования десны, в свою очередь, не позволяет подбирать адекватные методы лечения хронических воспалительных заболеваний полости рта.

Для разработки эффективных методов лечения заболеваний пародонта большое значение имеет анализ всего спектра морфологических изменений слизистой оболочки десны с выделением структурных маркеров повреждения и регенерации.

Цель работы – изучить характер и выраженность ультраструктурной реорганизации десны при хроническом гингивите и выделить ультраструктурные маркеры хронического воспаления.

### Материал и методы исследования

Проведено электронно-микроскопическое исследование биоптатов десны 22 пациентов (средний возраст –  $35,8 \pm 2,4$  лет) с хроническим гингивитом, полученных по строгим медицинским показаниям под проводниковой анестезией (Sol. Septanest – 1,8 мл с эпинефрином 1 : 100000). С этой целью после удаления зуба отсекали фрагмент слизистой оболочки десны из области межзубного сосочка (размерами около 1 мм<sup>2</sup>). Образцы десны фиксировали в 4%-м парафор-

мальдегиде, постфиксировали в 1%-й четырехокиси осмия, после дегидратации заливали в смесь эпона и аралдита. Полутонкие и ультратонкие срезы получали на ультратомах LKB III и Leica ULTRACUT EM UC7 (Leica, Германия). Полутонкие срезы окрашивали азуром II, ультратонкие – контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Исследование ультратонких срезов проводили в электронном микроскопе JEM1400 (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ. Фотографирование и стереологический анализ осуществляли с помощью цифровой камеры Veleta и программного обеспечения iTEM (Olympus, Япония, Германия).

Для ультраструктурного стереологического анализа эпителиоцитов использовали фотоснимки при конечном увеличении 20 000 раз. Оценивали объемную плотность митохондрий, гранулярной цитоплазматической сети, тонофиламентов, гранул гликогена и цитоплазмы.

Статистическую обработку результатов осуществляли с вычислением среднего значения, ошибки среднего. Значимость различий определяли по критерию Стьюдента. Различия считали статистически достоверными, если достигнутый уровень значимости (*p*) не превышал принятого критического уровня значимости, равного 0,05.

#### Результаты исследования и их обсуждение

По данным объективного осмотра, у пациентов с хроническим гингивитом отмечалось значительное воспаление десны, характеризующееся выраженной гиперемией, отеком и кровоточивостью. В биоптатах десны преобладала катарально-склерозирующая форма хронического воспаления, другие формы (склерозирующая и язвенно-некротическая) встречались реже. Для катарально-склерозирующего хронического гингивита была характерна выраженная структурно-функциональная гетерогенность эпителиоцитов всех слоев эпителия, но особенно базального и шиповатого слоев. Популяция базальных эпителиоцитов была представлена в основном клетками с умеренной электронно-плотной цитоплазмой, в которой различались многочисленные мелкие митохондрии, единичные профили гранулярной цитоплазматической сети, утолщенные (короткие) пучки тонофиламентов. Одновременно в базальном слое присутствовали клетки с электронно-плотной цитоплазмой, в которой плохо различались ультраструктуры, но которая была в ряде случаев вакуолизована. Такие клеточные формы, отслаивающиеся от базальной мембраны и теряющие контакты с соседними клетками, можно рассматривать как некробиотически (апоптотически) измененные.

Внутриклеточная реорганизация базальных и шиповатых эпителиоцитов была во многом стереотипной и заключалась в значительной редукции плотных межклеточных контактов (десмосом), утолщении

пучков тонофиламентов, значительных отложениях гликогена. Гранулы гликогена занимали значительную часть цитоплазмы шиповатых эпителиоцитов (объемная плотность равнялась  $32,2 \pm 3,4\%$ ), распределялись в основном диффузно; наблюдались небольшие очаги его секвестрации и лизиса, более выраженные в окооядерной зоне, что приводило к вакуолеобразным «опустошениям» цитоплазмы.

В цитоплазме эпителиоцитов шиповатого слоя регистрировались также умеренно расширенные цистерны комплекса Гольджи, единичные митохондрии (объемная плотность –  $1,4 \pm 0,4\%$ ), расширенные профили гранулярной цитоплазматической сети (объемная плотность –  $5,0 \pm 1,04\%$ ). Тонофиламенты образовывали утолщенные пучки, которые располагались в основном субплазмалеммально и проникали в цитоплазматические выросты.

Межклеточные пространства в базальном и шиповатом слоях были неравномерно расширены, количество межклеточных контактов (мостиков) уменьшено. Снижение числа межклеточных контактов и выраженный межклеточный отек способствовали разобщению клеток базального и шиповатого слоев; в ряде случаев отмечались явления акантолиза. Некоторые эпителиоциты компенсаторно формировали нетипичные удлиненные выросты. В межклеточном пространстве появлялись скопления хлопьевидного материала, лимфоциты и нейтрофилы. Между клетками шиповатого слоя часто наблюдались хлопьевидные массы, миеленоподобные структуры, эритроциты. Среди мигрирующих в базальный и шиповатый слои клеточных элементов наиболее часто встречались нейтрофилы и макрофаги.

Ультраструктурные изменения эпителиоцитов зернистого слоя по своей направленности были такими же, как и в шиповатом слое. Среди эпителиоцитов зернистого слоя различались клетки в основном с электронно-плотной цитоплазмой, уменьшенным количеством кератогиалиновых гранул и межклеточных контактов. Перинуклеарная вакуолизация цитоплазмы не была такой значительной, как в эпителиоцитах шиповатого слоя, однако регистрировалось усиление аутофагических процессов – формирование небольших остаточных телец. Эпителиоциты рогового слоя по ультраструктурной организации можно было разделить на два типа: клетки с умеренно электронно-плотной цитоплазмой и выраженными литическими изменениями ультраструктур, остаточными гранулами кератогиалина, уплощенным электронно-плотным ядром, клетки с электронно-плот-

ной (конденсированной), плохо структурированной цитоплазмой. В этом слое отмечалось исчезновение межклеточных контактов, что необходимо для служивания клеток.

При склерозирующей (атрофической) форме воспаления выявлялись сходные ультраструктурные изменения эпителия десны. В базальном слое также наблюдались два типа эпителиоцитов: небольшие удлинённые «темные» клетки с электронно-плотной цитоплазмой и плохо различимыми органеллами, большим количеством грубых пучков тонофиламентов и «светлые» более крупные округлые клетки.

При язвенно-некротической форме воспаления наблюдались деструктивные изменения эпителиоцитов всех слоев, заключающиеся в лизисе и деструкции органелл, обширных очагах опустошения цитоплазмы; в ядрах отмечалась выраженная конденсация хроматина. Межклеточные контакты подвергались значительной деструкции, наблюдался выраженный отек межклеточного пространства, в котором появлялись многочисленные миелиноподобные структуры, детрит, хлопьевидный материал и мигрирующие клетки макрофагального ряда и лейкоциты.

При характеристике ультраструктурной реорганизации базального слоя эпителия и субэпителиальной зоны собственной пластинки десны при хроническом гингивите следует особо отметить формирование базальными эпителиоцитами большого количества разветвленных (древовидных) базальных выростов, погруженных в собственную пластинку слизистой оболочки. Это явление можно охарактеризовать как своеобразную «мультипликацию» базальной мембраны. Появление в субэпителиальной зоне собственной пластинки «запустевших» впячиваний базальной мембраны, не соприкасающихся с базальной плазмалеммой эпителиоцитов, отражает процесс элиминации базальных клеток в результате нарушения в них пластических процессов, некротической или апоптотической гибели, отслоения (элиминации) клеток и заполнения оставшихся «карманов» волокнами и основным веществом соединительной ткани. Такие выраженные изменения соединительно-тканного каркаса эпителия десны можно рассматривать в качестве ультраструктурного (морфологического) маркера хронического гингивита.

В собственной пластинке слизистой оболочки десны при хроническом гингивите присутствовало, как правило, большое количество плазматических клеток, лимфоцитов в виде очаговых инфильтратов, а также активных форм фибробластов (миофибробластов). Важная характеристика структурно-функциональной перестройки собственной

пластинки десны – выраженное диффузное фиброзирование. В некоторых случаях коллагеновые волокна были собраны в протяженные массивные пучки, которые образовывали слои, ориентированные под углом друг к другу. Фиброзирование собственной пластинки было столь значительным, что в ряде случаев отмечалась обтурация просвета кровеносных сосудов и капилляров пучками коллагеновых волокон и основного вещества («зарастание» капилляров). Ультраструктурные изменения собственной пластинки слизистой оболочки десны при язвенно-некротическом гингивите заключались в плазматическом пропитывании интерстициального пространства, формировании массивных скоплений детрита между утолщенными пучками коллагеновых волокон. В составе воспалительно-клеточных инфильтратов преобладали нейтрофилы, плазмоциты и активные формы макрофагов.

Проведенное ультраструктурное исследование биоптатов десны при хроническом гингивите свидетельствует о том, что наиболее существенным изменениям подвергаются эпителиоциты шиповатого и базального слоев. В этих слоях часто отмечается значительный межклеточный отек (спонгиоз) с расширением межклеточных пространств, разрушением межклеточных мостиков с образованием пузырей и щелей между клетками (акантолиз). Акантолитические изменения эпителиоцитов можно рассматривать в данном случае как проявления дискератоза – нарушения биосинтеза кератогиалина и белков, входящих в состав десмосом. Подобные структурные преобразования слизистой оболочки полости рта описаны при различных патологических процессах и использовании разных пломбирочных материалов [7] и могут быть следствием проникновения трансудата из сосочкового слоя в базальный и шиповатый слои эпителия.

В шиповатом и базальном слоях эпителия десны практически у всех пациентов регистрируется выраженная структурно-функциональная гетерогенность эпителиоцитов; присутствуют эпителиоциты двух морфотипов: более крупные полигональные клетки с просветленной цитоплазмой («светлые» клетки), темные небольшие удлинённые или полигональные клетки («темные» клетки). Структурно-функциональная гетерогенность эпителиоцитов десны – одно из характерных морфологических проявлений хронических воспалительных процессов, которое выявлено нами, в частности, у курящих пациентов [8]. Важной характеристикой хронического гингивита является ремоделирование собственной пластинки слизистой оболочки десны, которое

выражается в «мультипликации» (разветвлении) базальной мембраны, диффузном фиброзировании и обтурации кровеносных капилляров. Изменения кровеносных сосудов, в свою очередь, стимулируют дальнейшее прогрессирование гингивитов и периодонтитов с образованием периваскулярного гиалинового материала [10].

Выраженная лимфоплазмочитарная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки десны – еще одна из важнейших морфофункциональных характеристик хронических заболеваний пародонта разной этиологии [1, 3, 5]. Часто лимфоплазмочитарная инфильтрация сопровождается лимфоангиогенезом, который усиливает ремоделирование собственной пластинки, ее фиброзирование. Некоторые авторы полагают, что ведущую роль в разрушении тканей пародонта играют именно клетки воспалительного инфильтрата, но не нейтрофилы и макрофаги, а лимфоциты [1]. К особенностям местного иммунитета полости рта при хронических гингивитах относятся высокие концентрации в ротовой жидкости интерлейкинов 2 и 6, фактора некроза опухоли- $\alpha$  (провоспалительных цитокинов) и значительно сниженные уровни интерлейкина-4 и интерферона- $\gamma$  (противовоспалительных цитокинов) [8]. Подобный цитокиновый дисбаланс отражает персистенцию антигенов (бактериальной или иной природы) в слизистой оболочке десны с развитием деструктивных и субкомпенсаторных реакций.

#### Заключение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что внутриклеточная реорганизация эпителиоцитов десны при хроническом воспалении носит стереотипный характер. При всех формах воспалительного процесса к ведущим ультраструктурным изменениям эпителиоцитов в базальном и шиповатом слоях эпителия десны относятся значительная вакуолизация перинуклеарной зоны (парциальный некроз), образование толстых пучков тонофиламентов, очаговый лизис и секвестрация гликогена, нарушение и редукция межклеточных контактов. Выраженность изменений определяется формой хронического воспалительного процесса. Наиболее значительная внутриклеточная реорганизация эпителиоцитов происходит при хроническом катарально-склерозирующем воспалении. Ультраструктурные изменения собственной пластинки слизистой оболочки десны при хроническом гингивите заключаются в формировании утолщенных пучков коллагеновых волокон в сосочковом и сетчатом слоях. В составе инфильтратов при катарально-склерозирующем

воспалении преобладают активные формы лейкоцитов и плазмочитов, при склерозирующем – активные формы фибробластов (миофибробластов) и тучные клетки. В эндотелиальной выстилке кровеносных сосудов преобладают деструктивно измененные эндотелиоциты. К наиболее манифестным ультраструктурным проявлениям хронического воспаления десны, по данным проведенного исследования, следует отнести выраженную гетерогенность эпителиоцитов, мультипликацию базальной мембраны, обтурацию кровеносных сосудов коллагеновыми волокнами и лимфоплазмочитарную инфильтрацию собственной пластинки.

#### Список литературы

1. Быков В.Л. Система иммунокомпетентных клеток десны человека в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта // *Арх. патол.* – 2005. – № 2. – С. 51–55.
2. Григорьян А.С., Фролова О.А. Морфофункциональные основы клинической симптоматики воспалительных заболеваний пародонта // *Стоматология.* – 2006. – № 3. – С. 11–17.
3. Есаян З.В. Факторы неспецифической и специфической защиты в патогенезе ранних форм поражения пародонта // *Стоматология.* – 2005. – Т. 1. – С. 58–64.
4. Зуфаров С.А. // Основные стоматологические заболевания. – 2003. – № 5. – С. 45–49.
5. Формирование плазмочитарных инфильтратов в десне пациентов с хроническим верхушечным периодонтитом / И.В. Майборodin, А.Б. Войтович, Е.В. Козлова и др. // *Морфология.* – 2009. – Т. 135, № 2. – С. 43–47.
6. Взаимосвязь патологических проявлений в слизистой оболочке полости рта (СОПР) и заболеваний желудочно-кишечного тракта / Г.И. Осольский, Л.М. Непомнящих, А.В. Юркевич и др. // *Дальневосточный медицинский журнал.* – 2011. – № 3. – С. 130–133.
7. Шахламов В.А., Солнышкова Т.Г., Артамонова Н.В. Ультраструктура слизистой оболочки десневой борозды при применении гибридных гелеокомпозиций // *Бюл. экспер. биол.* – 2006. – Т. 141, № 1. – С. 95–98.
8. Морфологический и иммунологический анализ слизистой оболочки полости рта при табакокурении и одонтопрепарировании / А.В. Щеглов, Г.И. Осольский, Е.Л. Лушникова, Л.М. Непомнящих // *Бюл. экспер. биол.* – 2006. – Т. 142, № 11. – С. 576–580.
9. Tatakis D.N., Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. I. Background review and rationale // *J. Clin. Periodontol.* – 2004. – Vol. 31. – P. 229–238.
10. Zoellner H., Chapple C.C., Hunter N. Microvasculature in gingivitis and chronic periodontitis: Disruption of vascular networks with protracted // *Microsc. Res. Tech.* – 2002. – Vol. 56. – P. 15–31.

#### Рецензенты:

Волков А.М., д.м.н., зав. лабораторией патоморфологии и электронной микроскопии ФГУ Новосибирского НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина Минздравсоцразвития РФ, г. Новосибирск;

Горчаков В.Н., д.м.н., профессор, зав. лабораторией функциональной морфологии НИИ клинической и экспериментальной лимфологии Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 29.08.2011.