

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ДЕСНЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ**Елена Леонидовна ЛУШНИКОВА, Илья Иршатович БАКУЛИН***ГУ НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН
630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2*

Изучен характер ультраструктурной реорганизации слизистой оболочки десны в зависимости от формы хронического воспаления. Показано, что при всех формах гингивитов сохраняется выраженная структурно-функциональная (фенотипическая) гетерогенность эпителиоцитов во всех слоях эпителия десны. Наиболее значительная внутриклеточная реорганизация эпителиоцитов характерна для хронического катарального воспаления. Установлено, что при всех формах воспалительного процесса в полости рта в эпителиальном пласте десны присутствуют эпителиоциты с ультраструктурными признаками регенераторно-пластической недостаточности. В качестве основных ультраструктурных маркеров регенераторно-пластической недостаточности эпителиоцитов десны выделены расширение профилей гранулярной эндоплазматической сети и околядерного межмембранного пространства, уменьшение количества пучков тонофиламентов и кератогиалиновых гранул, нарушения плотных межклеточных контактов и развивающийся вследствие этого акантолиз.

Ключевые слова: хроническое воспаление, слизистая оболочка десны, ультраструктура.

Пациенты с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта составляют одну из наиболее многочисленных групп людей, обращающихся к врачу-стоматологу за медицинской помощью. Хронические воспалительные процессы в полости рта существенно осложняют проведение различных видов стоматологического лечения, в частности, оказание стоматологической ортопедической помощи. Распространенными являются не только пародонтиты, но и хронические воспалительные заболевания так называемого маргинального пародонта (десны) — хронические гингивиты [1, 2]. Воспалительные заболевания полости рта обусловлены чаще всего персистирующей инфекцией, на их возникновение и течение оказывают влияние также неблагоприятные факторы внешней среды, среди которых следует прежде всего выделить воздействие ксенобиотиков (в основном лекарственных препаратов) и табакокурение [3].

Воспалительные процессы в десне часто являются первичными и отражают нарушения барьерной и защитной функций ее эпителиального пласта [4]. Защитная функция десны обеспечивается развитой системой иммунокомпетентных клеток, среди которых важнейшую роль играют лимфоциты, макрофаги, дендритные антигенпредставляющие и плазматические клетки [5]. В то же время характер и течение воспалительных процессов в полости рта определяются наличием системных заболеваний

(сахарный диабет, артериальная гипертензия, язвенная болезнь и др.) [6, 7, 8], что необходимо учитывать при диагностике и выборе стоматологического лечения. Несмотря на значительный прогресс в разработке эффективных методов оказания стоматологической помощи и их достаточно широкое применение, следует отметить, что частота и тяжесть заболеваний пародонта за последние годы существенно не снизились. Эти обстоятельства определяют необходимость дальнейшего изучения различных аспектов хронического воспаления полости рта для совершенствования диагностики и адекватного лечения, особенно это касается препарирования и протезирования зубов.

Цель работы — изучить выраженность ультраструктурной реорганизации слизистой оболочки (СО) десны при разных формах хронического воспаления и выделить основные ультраструктурные маркеры нарушения внутриклеточной регенерации эпителиоцитов.

Материал и методы исследования

Ультраструктурное исследование СО десны проведено у 21 пациента с клиническим диагнозом «хронический катаральный гингивит» (17 пациентов) и «хронический атрофический гингивит» (4 пациента). Для морфологического исследования по медицинским показаниям под проводниковой анестезией брали фрагменты СО десны размером 2 мм³. Биоптаты десны фиксировали в 10% нейтральном формалине, проводили стандартную обработку ткани для

заливки образцов в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином по Романовскому-Гимза. Для электронно-микроскопического исследования фрагменты десны после фиксации в 4% параформальдегиде дофиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия в течение 2 ч. После обезвоживания в спиртах и ацетоне заливали в смесь эпон и аралдита. Полутонкие (1 мкм) срезы окрашивали азуром II. Ультратонкие срезы контрастировали спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца, просматривали в электронном микроскопе JEM 1010 при ускоряющем напряжении 60 кВ.

Результаты исследования

Общее строение СО десны у всех пациентов было сохранено: она состояла из многослойного плоского преимущественно ороговевающего эпителия и собственной пластинки, которая образовывала соединительнотканые сосочки. В эпителии хорошо различались базальный, шиповатый, зернистый и поверхностный (роговой) слои. По данным патоморфологического анализа, у пациентов с диагнозом «хронический катаральный гингивит» в СО десны выявлялись морфологические признаки преимущественно хронического катарального (70%) и хронического катарально-склерозирующего (30%) воспаления. У всех пациентов с диагнозом «хронический атрофический гингивит» в СО десны наблюдалась картина хронического склерозирующего воспаления. При хроническом катаральном воспалении в СО десны отмечались выраженные дистрофические изменения эпителиоцитов во всех слоях эпителиального пласта и значительная диффузная лимфоцитарно-плазмоцитарная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки десны, часто с примесью нейтрофилов, выраженная миграция лейкоцитов в эпителий, часто достигающая рогового слоя. Катарально-склерозирующее воспаление характеризовалось менее выраженной воспалительноклеточной инфильтрацией собственной пластинки слизистой оболочки десны и ее умеренной коллагенизацией. При склерозирующем воспалении отмечалась, как правило, значительная атрофия эпителиального пласта и выраженный склероз сосочкового и сетчатого слоев собственной пластинки.

Следует отметить, что в исследованных нами биоптатах на большем протяжении эпителиального пласта отмечался паракератоз, который в СО полости рта в отличие от кожи представляет собой физиологическое явление [4]. Паракератоз характеризовался появлением

в роговом слое больших полигональных клеток с ядрами и кератогиалиновыми гранулами. Следует отметить большой полиморфизм эпителиоцитов данного слоя. В участках ортокератоза на поверхности эпителия наблюдались 3–4 ряда роговых чешуек.

Ультраструктурные изменения СО полости рта определялись в основном формой хронического воспалительного процесса. Наиболее значительные изменения ультраструктуры эпителиоцитов и собственной пластинки СО десны выявлены при хроническом катаральном воспалении. Популяция базальных эпителиоцитов в таких случаях была представлена клетками 3-х типов. Клетки 1-го типа содержали электронно-прозрачную цитоплазму, небольшое число органелл и тонких пучков тонофиламентов и большое количество полисом; цитоплазма, как правило, была в значительной степени вакуолизирована (рис. 1, а). Ядра в таких клетках содержали только эухроматин; ядрышко было крупным петлистым с хорошо развитой гранулярной и фибриллярной нуклеоломой. Эту клеточную форму можно отнести к молодым, незрелым клеткам.

Клетки 2-го типа имели более электронно-плотную цитоплазму, в которой различались многочисленные полисомы, большое количество утолщенных пучков тонофиламентов, а также единичные липидные капли; цитоплазма этих клеток также была вакуолизирована в результате расширения цистерн эндоплазматической сети (рис. 1, а). Ультраструктура ядер и ядрышек была такой же, как и в клетках первого типа. Клетки 3-го типа содержали в цитоплазме большое количество гликогена, который нередко подвергался секвестрации (рис. 1, б). Ядерная оболочка в таких клетках, как правило, была извилистой. Ядрышки были крупными, в основном петливой формы, иногда — фрагментированными. В клетках 3-го типа наблюдалось большое количество вакуолеобразных и лакунообразных расширений. Межклеточные контакты в базальном слое были сохранены; присутствовали как десмосомы, так и многочисленные интердигитальные соединения.

Ультраструктурные изменения эпителиоцитов шиповатого слоя заключались в основном в выраженной вакуолизации их цитоплазмы (в результате расширения везикул и цистерн эндоплазматической сети) и значительной редукции плотных межклеточных контактов (десмосом) (рис. 1, в). Особенно следует отметить значительные в некоторых эпителиоцитах шиповатого слоя расширения околядерного

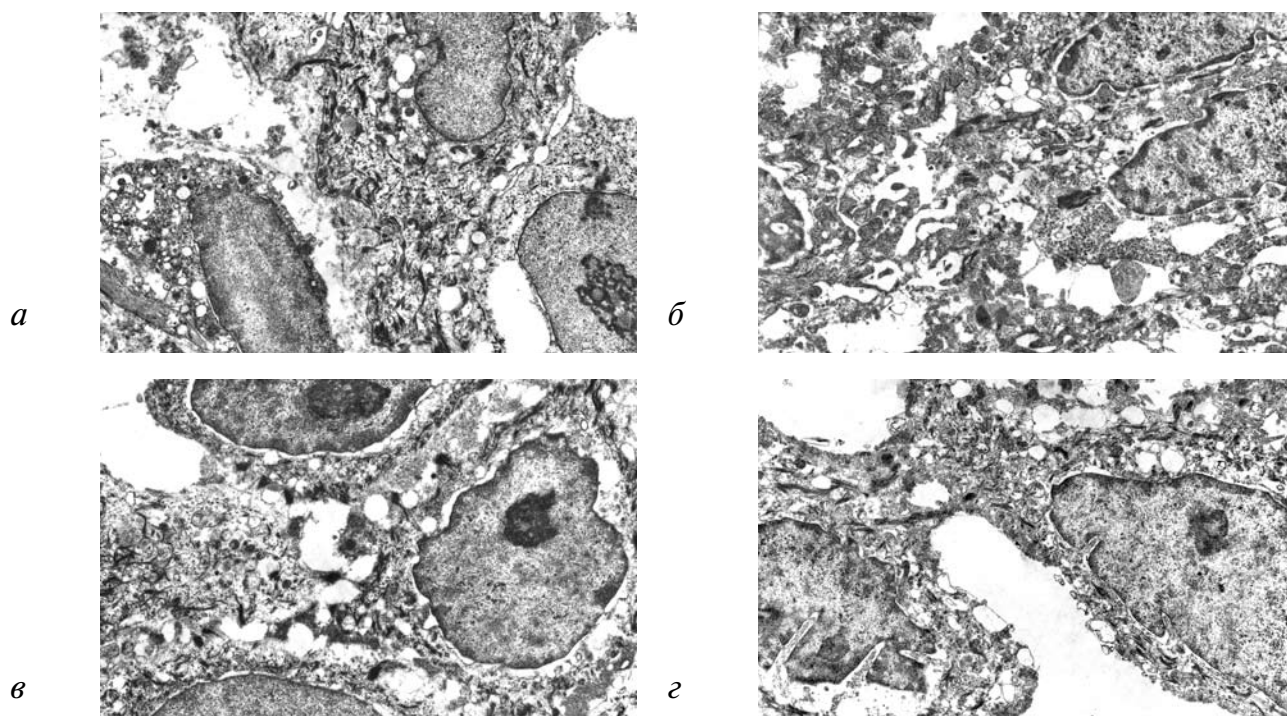


Рис. 1. Ультраструктура эпителиоцитов базального и шиповатого слоев эпителия десны при хроническом воспалении. а — полиморфизм эпителиоцитов базального слоя — «светлые» и «темные» клетки, увел. 5000; б — секвестрация гликогена в эпителиоцитах базального слоя, увел. 6000; в — вакуолеобразные расширения межмембранного околоядерного пространства и эндоплазматической сети в эпителиоцитах шиповатого слоя, увел. 5000; г — кольцевидная трансформация ядрышка, субплазмалеммальная вакуолизация цитоплазмы и редукция межклеточных контактов в эпителиоцитах шиповатого слоя в зоне выраженного межклеточного отека, увел. 5000.

межмембранного пространства и литические изменения околоядерной зоны, характерные для регенераторно-пластической недостаточности клеток. В цитоплазме эпителиоцитов шиповатого слоя содержалось различное количество диффузно расположенных пучков тонофиламентов, такие же пучки присутствовали в цитоплазматических выростах.

В ядрах эпителиоцитов шиповатого слоя наблюдался полиморфизм ядрышек — встречались как петлистые ядрышки с хорошо развитыми гранулярным и фибриллярным компонентами, так и ядрышки с явлениями сегрегации. Важно отметить, что в эпителиоцитах с заметной редукцией межклеточных контактов и выраженной вакуолизацией цитоплазмы в ядрах содержались ядрышки с сегрегированными гранулярным и фибриллярным компонентами и кольцевидно трансформированные ядрышки, что отражало регенераторно-пластическую недостаточность данных клеток (рис. 1, г). В результате уменьшения количества межклеточных контактов такие эпителиоциты приобретали округлую форму, на их поверхности формировались небольшие пузырьковидные цитоплазматические выросты (возможно,

в местах предшествовавших десмосом). Характерной также была значительная субплазмалеммальная вакуолизация цитоплазмы (рис. 1, г). Снижение числа межклеточных контактов и выраженный межклеточный отек способствовали разобщению клеток шиповатого слоя.

Ультраструктурные изменения эпителиоцитов зернистого слоя по своей направленности не отличались от таковых в шиповатом слое. Среди эпителиоцитов зернистого слоя различались клетки с электронно-прозрачной цитоплазмой и клетки с электронно-плотной цитоплазмой. В клетках обоих типов следует отметить уменьшение количества кератогиалиновых гранул и межклеточных контактов (рис. 2, а). Вакуолизация цитоплазмы присутствовала, но не была такой значительной, как в эпителиоцитах шиповатого слоя. В эпителиоцитах этого слоя наблюдалось усиление аутофагических процессов — формирование небольших остаточных телец. Ядра эпителиоцитов зернистого слоя содержали примерно равное количество эухроматина и гетерохроматина; ядрышки встречались редко.

Эпителиоциты рогового слоя по их ультраструктурной организации можно было разде-

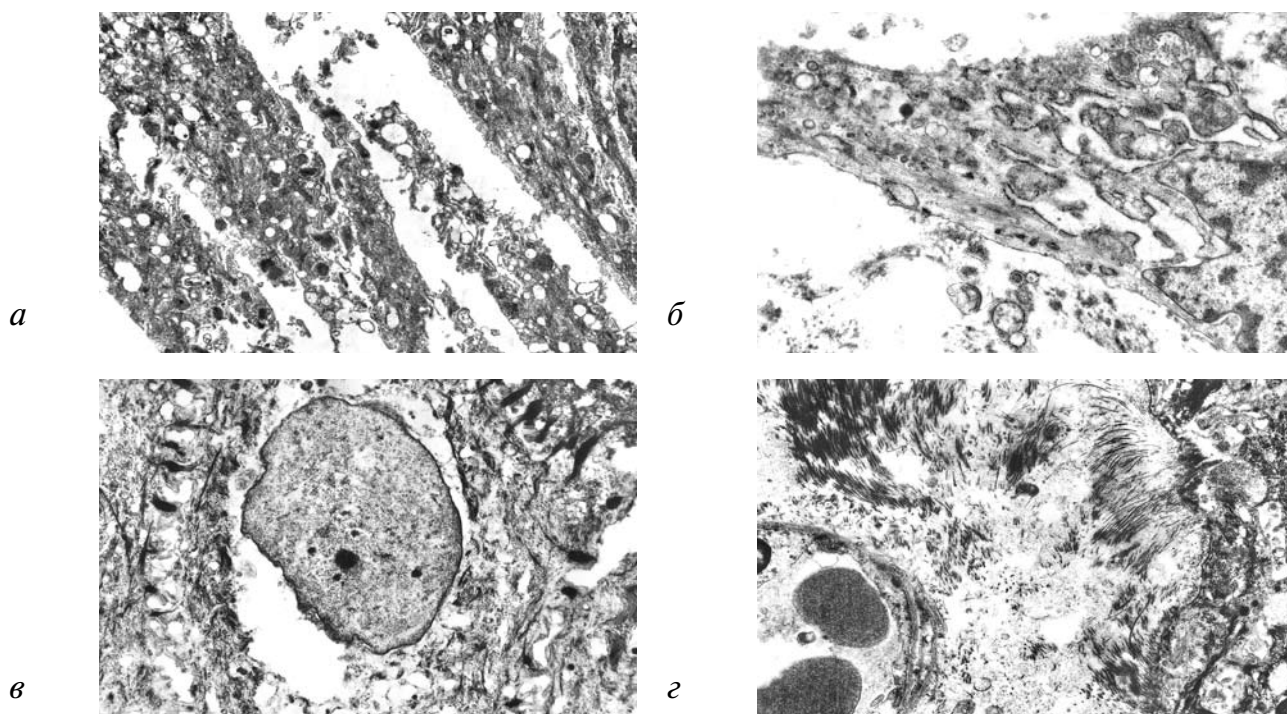


Рис. 2. Ультраструктура слизистой оболочки десны при хроническом воспалении.

а — уменьшение количества кератогиалиновых гранул, вакуолизация цитоплазмы и потеря межклеточных контактов в эпителиоцитах зернистого слоя, увел. 5000; б — активная форма миофибробласта в собственной пластинке слизистой оболочки десны, увел. 10 000; в — выраженная вакуолизация околоядерной зоны в базальном эпителиоците десны, увел. 5000; г — утолщенные пучки коллагеновых волокон вблизи базальной мембраны и вокруг кровеносных сосудов, увел. 5000.

лить на два типа — с электронно-прозрачной цитоплазмой и выраженными литическими изменениями ультраструктур и с электронно-плотной (конденсированной) плохо структурированной цитоплазмой. В этом слое отмечалось исчезновение межклеточных контактов, что необходимо для сближения клеток.

При характеристике ультраструктуры собственной пластинки СО десны пациентов с хроническим катаральным гингивитом следует отметить наличие в сосочковом слое большого количества активных форм фибробластов (миофибробластов) (**рис. 2, б**) и плазматических клеток. В интерстициальном пространстве постоянно встречались вакуолизированные фрагменты клеток, многочисленные остаточные тельца. Вокруг кровеносных капилляров наблюдались небольшие скопления коллагеновых волокон.

При хроническом катарально-склерозирующем и склерозирующем воспалении во всех слоях эпителия десны отмечался стереотипный характер ультраструктурных изменений эпителиальных клеток.

При катарально-склерозирующем воспалении в базальном слое различались эпителиоциты двух типов. В клетках 1-го типа цито-

плазма была электронно-прозрачной, в ней присутствовали многочисленные полисомы и большое количество тонких пучков тонофиламентов; цитоплазма выглядела умеренно вакуолизированной за счет расширения цистерн эндоплазматической сети. В клетках 2-го типа цитоплазма была более электронно-плотной, в ней содержались многочисленные утолщенные пучки тонофиламентов, различались профили гранулярной эндоплазматической сети, которые были неравномерно расширены. Мощные пучки тонофиламентов простирались в цитоплазматические отростки, количество которых существенно не изменялось. Межклеточный отек был незначительным, в большинстве случаев он отсутствовал. Ядра базальных эпителиоцитов содержали эухроматин и крупные петлистые ядрышки с хорошо развитым гранулярным и фибриллярным компонентами.

Ультраструктурные изменения эпителиоцитов шиповатого и зернистого слоев были менее выраженными, чем при катаральном воспалении. В цитоплазме эпителиоцитов шиповатого слоя присутствовали многочисленные утолщенные пучки тонофиламентов, отмечалось неравномерное расширение профилей гранулярной эндоплазматической сети. Межклеточные

плотные контакты сохранялись; межклеточный отек отсутствовал или был незначительным. В эпителиоцитах зернистого слоя следует отметить уменьшение кератогиалиновых гранул. В то же время в цитоплазме некоторых клеток наблюдалось большое количество одиночных кератогиалиновых волокон и нежных пучков тонофиламентов; присутствовали многочисленные полисомы и рибосомы. Во всех клетках отмечались расширения гранулярной эндоплазматической сети.

При склерозирующем воспалении ультроструктурные изменения эпителиоцитов базального слоя заключались в выраженной вакуолизации их цитоплазмы (расширении цистерн гранулярной эндоплазматической сети), особенно в околоядерной области (рис. 2, в). В цитоплазме этих клеток различались полисомы, гранулы гликогена, пучки тонофиламентов. Межклеточные контакты в основном сохранялись. Следует отметить образование многочисленных цитоплазматических микроворсинок, которые заполняли межклеточные пространства. Ядра в базальных клетках содержали эухроматин и крупные петлистые ядрышки.

Характер изменений эпителиоцитов шиповатого слоя был таким же, как и в базальном слое: часто встречались очаги лизиса и деструкции органелл в околоядерной зоне, здесь же чаще всего отмечались значительные вакуолеобразные расширения эндоплазматической сети. В цитоплазме эпителиоцитов шиповатого слоя содержалось большое количество утолщенных пучков тонофиламентов, в некоторых клетках можно было говорить о гиперпродукции этих структур. Нарушения межклеточных контактов были единичными, межклеточный отек отсутствовал. Ядра эпителиоцитов шиповатого слоя содержали в основном эухроматин, количество гетерохроматина было небольшим. В эпителиоцитах зернистого слоя присутствовали кератогиалиновые гранулы и укороченные пучки тонофиламентов, которые располагались преимущественно вокруг ядер. Цитоплазма этих клеток была умеренно вакуолизирована, в ней различались также полисомы и гранулы гликогена.

Ультроструктурные изменения собственной пластинки СО десны при склерозирующем воспалении заключались в выраженной коллагенизации интерстициального пространства. Особенно следует отметить формирование утолщенных пучков коллагеновых волокон вблизи базальной мембраны эпителия, а также вокруг кровеносных сосудов (рис. 2, г). Эндотелиоциты, выстилающие кровеносные сосуды,

отличались структурно-функциональной гетерогенностью. Как правило, в эндотелиальной выстилке присутствовали «светлые» и «темные» клетки. В светлых клетках цитоплазма была в значительной степени лизирована, количество органелл уменьшено. В темных клетках различались немногочисленные органеллы (профили эндоплазматической сети, митохондрии). Во всех эндотелиоцитах наблюдалось снижение пиноцитозной активности. Важно отметить утолщение базальной мембраны эндотелиоцитов при данной форме хронического воспаления.

Проведенное электронно-микроскопическое изучение биоптатов десны позволяет заключить, что ультроструктурные изменения эпителиоцитов при разных формах хронического воспаления в десне различаются по выраженности и отражают развитие регенераторно-пластической недостаточности. При всех формах гингивитов сохраняется выраженная структурно-функциональная (фенотипическая) гетерогенность эпителиоцитов во всех слоях эпителия десны. Наиболее значительные ультроструктурные изменения эпителиоцитов выявлены при хроническом катаральном воспалении. К факторам, которые вызывают развитие регенераторно-пластической недостаточности эпителиоцитов СО полости рта, можно отнести токсины патогенных микроорганизмов, ксенобиотики, входящие в состав некоторых продуктов питания и лекарственных препаратов, компоненты стоматологических протезов, характеризующихся плохой биосовместимостью и т.п. Следует отметить, что выраженность ультроструктурных изменений эпителиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров десны при катаральных гингивитах в значительной степени зависит от сопутствующей соматической патологии [6, 7]. В таких случаях в микроокружении эпителиоцитов может изменяться спектр и соотношение биологически активных медиаторов, факторов роста и дифференцировки клеток, микроэлементов и кофакторов, что вызывает снижение уровня внутриклеточной регенерации клеток.

При всех формах воспалительного процесса одним из ведущих ультроструктурных изменений эпителиоцитов в базальном, шиповатом и зернистом слоях является расширение профилей гранулярной эндоплазматической сети и околоядерного межмембранного пространства. В эпителиоцитах шиповатого и зернистого слоев снижается количество пучков тонофиламентов и кератогиалиновых гранул соответственно. Эти ультроструктурные изменения являются

маркерами развивающейся регенераторно-пластической недостаточности. К проявлениям регенераторно-пластической недостаточности эпителиоцитов десны относятся также уменьшение количества плотных контактов и развивающийся вследствие этого акантолиз. В ядрах таких эпителиоцитов, как правило, присутствуют ядрышки с сегрегированными гранулярным и фибриллярным компонентами. При характеристике ультроструктуры собственной пластинки СО десны пациентов с хроническим катаральным гингивитом следует отметить наличие в сосочковом слое большого количества активных форм фибробластов (миофибробластов) и плазматических клеток.

Литература

1. Григорьян А.С., Фролова О.А. Морфофункциональные основы клинической симптоматики воспалительных заболеваний пародонта // *Стоматология*. 2006. 3. 11-17.
2. Grigor'yan A.S., Frolova O.A. Morphofunctional basis of clinical symptomatology of inflammatory diseases of parodontium // *Stomatologiya*. 2006. 3. 11-17.
3. Перова М.Д., Шубич М.Г. Молекулярные аспекты патогенеза воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта // *Арх. патол.* 2006. 5. 59-63.
4. Perova M.D., Shubich M.G. Molecular aspects of pathogenesis of inflammatory destructive diseases of parodontium // *Arkh. patol.* 2006. 5. 59-63.
5. Щеглов А.В., Осольский Г.И., Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М. Морфологический и иммунологический анализ слизистой оболочки полости рта при табакокурении и одонтопрепарировании // *Бюлл. экспер. биол.* 2006. 11. 576-580.
6. Scheglov A.V., Oskol'skii G.I., Lushnikova E.L., Nepomnyaschikh L.M. Morphologic and immunologic analysis of mucous membrane of oral cavity in case of smoking and odontopreparation // *Byul. eksper. biol.* 2006. 11. 576-580.
7. Быков В.Л. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта // *Стоматология*. 1997. 3. 12-17.
8. Bykov V.L. Functional morphology of epithelial barrier of mucous membrane of oral cavity // *Stomatologiya*. 1997. 3. 12-17.
9. Быков В.Л. Система иммунокомпетентных клеток десны человека в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта // *Арх. патол.* 2005. 2. 51-55.
10. Bykov V.L. System of immunocompetent cells of human gum in norm and in case of inflammatory disease of parodontium // *Arkh. patol.* 2005. 2. 51-55.
11. Самойлов К.О., Шкурूपий В.А., Верещагина Г.Н. Ультроструктура клеток шиповидного слоя эпителия десен у больных с хроническим катаральным гингивитом на фоне дисплазии соединительной ткани // *Стоматология*. 2002. 6. 7-9.
12. Samoilov K.O., Shkurupii V.A., Vereschagina G.N. Ultrastructure of spiny epithelial cell of gum of patients with chronic catarrhal gingivitis against a background of dysplasia of conjunctive tissue // *Stomatologiya*. 2002. 6. 7-9.
13. Самойлов К.О., Шкурूपий В.А., Верещагина Г.Н. Ультроструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров десен больных с хроническим катаральным гингивитом на фоне дисплазии соединительной ткани // *Стоматология*. 2004. 4. 9-12.
14. Samoilov K.O., Shkurupii V.A., Vereschagina G.N. Ultrastructure of endothelial cells of blood capillaries of gum of patients with chronic catarrhal gingivitis against a background of dysplasia of conjunctive tissue // *Stomatologiya*. 2004. 4. 9-12.
15. Юркевич А.В., Матсуя Д.В., Осольский Г.И. Патоморфологическое исследование слизистой оболочки десны при язвенной болезни желудка // *Сибирский консилиум*. 2005. 4 (45). 37-40.
16. Yurkevich A.V., Matsyupa D.V., Oskol'skii G.I. Pathomorphologic investigation of mucous membrane of gum in case of stomach ulcer // *Sibirskii konsilium* 2005. 4 (45). 37-40.

ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF GINGIVAL MUCOUS MEMBRANE UNDER CHRONIC INFLAMMATION

Elena Leonidovna LUCHNIKOVA, Il'ya Irshatovich BAKULIN

SI RI for regional pathology and pathomorphology of SB RAMS
2, Ac. Timakov str., Novosibirsk, 630117

Character of ultrastructural reorganization of gum mucous membrane depending on chronic inflammation form has been studied. It has been shown that apparent structural-functional (phenotypic) heterogeneity of epithelial cells in all epithelium layers remains under all forms of gingivitis. The most substantial intracellular reorganization of epithelial cells is typical for chronic catarrhal inflammation. It has been revealed that epithelial cells with ultrastructural features of regenerative and plastic insufficiency are present at all forms of inflammatory process. Ultrastructural markers of regenerative and plastic insufficiency of epitheliocytes have been described, namely dilation of granular endoplasmic reticulum profiles and intermembrane perinuclear space, decrease of number of tonofilament bundles and keratogialin granules, damages of intercellular tight contacts and developing acantholysis.

Key words: gum mucous membrane, chronic inflammation, ultrastructure.

Lushnikova E.L. — doctor of Biological Sciences, professor, Head of department of cellular biology and morphology, Head of laboratory of cytology and cellular biology, e-mail: pathol@soramn.ru
Bakulin I.I. — postgraduate student, e-mail: pathol@soramn.ru