

П.И.Гриценко  
Н.С.Петрук  
А.В.Самойленко  
И.В.Твердохлеб

ГУ Днепропетровская  
медицинская академия  
МЗ Украины»

**Ключевые слова:** первичный хронический периодонтит, вторичный хронический периодонтит, гистоструктура, ультраструктура.

Надійшла: 14.05.2014

Прийнята: 03.06.2014

УДК 616.314.17-036.1-008.811.9-08:615.37

## КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ И УЛЬТРА-СТРУКТУРА ПЕРИАПИКАЛЬНОЙ ГРАНУЛЯЦИОННОЙ ТКАНИ ПРИ ПЕРВИЧНОМ И ВТОРИЧНОМ ХРОНИЧЕСКОМ ПЕРИОДОНТИТЕ

*Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы: «Разработка и внедрение новых методов диагностики, лечения и профилактики кариеса и его осложнений, заболеваний пародонта и слизистой оболочки полости рта» (номер государственной регистрации 0110U003018).*

**Реферат.** Целью данной работы явилось изучение клеточного состава и ультраструктурных особенностей грануляционной ткани, формирующейся в ходе течения первичного и вторичного верхушечного периодонтита. Морфологический анализ показал, что при первичном периодонтите грануляционная ткань содержит умеренное количество лейкоцитов различных типов, а также единичные макрофаги и плазмциты с ограниченной функциональной активностью. При вторичном периодонтите ткань гранулемы содержит многочисленные мононуклеарные макрофаги, плазмциты и гигантские многоядерные клетки с повышенной активностью, что соответствует морфологической картине формирования иммунной гранулемы.

**Morphologia.** – 2014. – Т. 8, № 2. – С. 14-19.

© П.И.Гриценко, Н.С.Петрук, А.В.Самойленко, И.В.Твердохлеб, 2014

✉ gritsenko-pavlo@meta.ua

Gritsenko P.I., Petruk N.S., Samoylenko A.V., Tverdokhle I.V. Cellular composition and ultrastructure of periapical granulation tissue in primary and secondary chronic periodontitis.

**ABSTRACT. Background.** There are no complete data on the occurrence of bacteria in the outbreak of chronic inflammation a consequence of their high virulence, or the result of a defect of local mechanisms of immune protection. To answer these questions, as well as to evaluate the nature, severity changes periapical tissues of the tooth and the activity of the inflammatory process in the apex of the tooth root is possible only during the morphological study of biopsy material. **Objective.** The aim of this work was to study the cellular composition and ultrastructural features of the granulation tissue formed during the current the primary and secondary apical periodontitis. **Methods.** There were included in the histological examination of the teeth 78, who underwent resection of the apex, followed by a fence of histological material. For ultrastructural studies of granuloma periodontal tissue samples were fixed with 2.5% glutaraldehyde solution, material embedded in Epon-812 («SPI-Pon™ 812 Epoxy Embedding Kit», USA). The study was conducted using a transmission electron microscopy. **Results.** In the development of destructive periodontal inflammation are actively involved both specific and non-specific mechanisms of immunity. **Conclusion.** In primary periodontitis granulation tissue contains a moderate amount of white blood cells of various types, as well as single macrophages and plasma cells with reduced functional activity. In secondary periodontitis granuloma contains numerous mononuclear macrophages, plasma cells and giant multinucleated cells with increased activity, which corresponds to the morphological picture of the formation of immune granulomas.

**Key words:** primary chronic periodontitis, secondary chronic periodontitis, histological structure, ultrastructure.

**Citation:** Gritsenko PI, Petruk NS, Samoylenko AV, Tverdokhle IV. [Cellular composition and ultrastructure of periapical granulation tissue in primary and secondary chronic periodontitis]. Morphologia. 2014;8(2):14-9. Russian.

### Введение

Воспалительные процессы пульпы и периодонта продолжают занимать третье место в Украине среди стоматологических заболеваний. К

сожалению, за последние 30 лет не появилось новых экспериментально-биологических данных, которые можно было бы применить в эндодонтии для существенного улучшения качества ле-

чения болезней периодонта и его осложнений.

Мы, как и некоторые другие авторы [1-3], выделяем два вида хронического верхушечного периодонтита: первичный, когда эндодонтическое лечение проводится впервые, и вторичный, если ранее предпринималось удачное или неудачное лечение. Как известно, воспалительно-деструктивные изменения, развивающиеся в периапикальной зоне при периодонтите, являются преимущественно осложнением кариозного процесса и пульпита. Основным способом наблюдения за динамикой развития периапикальных изменений по-прежнему остается рентгенологическое исследование, однако оно зачастую используется без учета морфологической сущности формирующегося процесса. Имеются лишь единичные исследования, в которых предприняты попытки сопоставления рентгенологических и морфологических данных [4].

Хронические формы периодонтита являются исходом постоянного и продолжительного воздействия микрофлоры корневого канала на периодонт [5]. При этом до конца не известно, является ли появление бактерий в очаге хронического воспаления следствием их высокой вирулентности или результатом нарушения местных механизмов иммунологической защиты. Ответить на эти вопросы, а также оценить характер, степень выраженности изменений периапикальных тканей зуба и активность воспалительного процесса в области верхушки корня зуба можно только при проведении морфологического исследования биопсийного материала [6].

Периапикальные поражения после правильно проведенного лечения, согласно протоколам эндодонтического лечения, должны заканчиваться регенерацией тканей периодонта. Тем не менее, во многих случаях апикальный периодонтит продолжает персистировать, что в последующем приводит к неуспешному результату эндодонтического лечения. Причина данного феномена остается не выясненной.

### **Цель**

Целью данной работы явилось изучение клеточного состава и ультраструктурных особенностей грануляционной ткани, формирующейся в ходе течения первичной и вторичной форм верхушечного периодонтита.

### **Материалы и методы**

Под наблюдением находилось 59 пациентов в возрасте от 18 до 50 лет с хроническими формами деструктивного периодонтита. Все пациенты были разделены на 2 клинические группы: 1-я – с первичным верхушечным периодонтитом (лечение проводилось впервые) и 2-я – с вторичным верхушечным периодонтитом (лечение уже было проведено ранее и безуспешно). По возрасту, соматическому и стоматологическому статусу группы пациентов были сопоставимы.

Для ультраструктурного исследования гра-

нулемы пародонта образцы ткани фиксировали с помощью 2,5%-ного раствора глутаральдегида, приготовленного на 0,1М фосфатном буфере (pH 7,3). Постфиксацию материала проводили в 1%-ном забуференном растворе тетраоксида осмия на протяжении 1 часа. Обезвоживание образцов ткани осуществляли с использованием спиртов возрастающей концентрации и завершали тремя сменами пропиленоксида, после чего материал заключали в Эпон-812 («SPI-Pon™ 812 Epon Embedding Kit», США). Приготовлению ультратонких срезов предшествовал анализ полутонких срезов с помощью световой микроскопии. Для получения срезов толщиной 60-80 нм использовали ультрамикротом УМТП-6М («SELMi», Украина). Ультратонкие срезы контрастировали 2%-ным водным раствором ураниацетата в течение 15 мин при температуре +37°C с последующей импрегнацией раствором цитрата свинца по Рейнольдсу на протяжении 30 мин. Исследование проводили с помощью трансмиссионного электронного микроскопа ПЭМ-100-01 («SELMi», Украина) при ускоряющем напряжении 70-75 кВ в диапазоне первичных увеличений 4000-15000. Подготовка материала для ультраструктурного анализа проводилась согласно общепринятым стандартам [7; 8].

### **Результаты и их обсуждение**

Светооптическое и ультраструктурное исследование показало, что основу периапикального очага хронического воспаления составляла грануляционная ткань. В обеих группах пациентов в клеточном составе ткани гранулемы определялись скопления лимфоцитов, плазматические клетки, моноцитарно-мононуклеарные фагоциты, эозинофилы, нейтрофилы, фибробласты, однако их количественное соотношение различалось в группах с первичным и вторичным патологическим процессом. В частности, в грануляционной ткани у больных с первичным периодонтитом наблюдались диффузно расположенные лимфоциты, нейтрофильные и эозинофильные гранулоциты в умеренном количестве, единичные мононуклеарные макрофаги и плазмоциты. Фибробласты располагались группами преимущественно в наружных участках верхушечных гранул.

Напротив, при вторичном верхушечном периодонтите гранулярные лейкоциты встречались редко, количество лимфоцитов было существенно большим по сравнению с первичным процессом, причем они формировали компактные скопления. В данной клинической группе в ткани гранулемы содержалось большое количество плазмоцитов и макрофагов, часто обнаруживались гигантские многоядерные клетки. Содержание фибробластов уступало по количеству ткани первичной гранулемы, однако отмечалось значительное преобладание грубых слабо ориентированных пучков коллагеновых волокон.

При использовании электронно-микроскопического исследования удалось установить широкий спектр различий между двумя клиническими группами как по характеру тканеобразующих элементов первичной и вторичной гранулем, так и по структурно-функциональным особенностям иммунокомпетентных клеток. Лимфоциты в составе диффузных инфильтратов грануляционной ткани при первичном периодонтите содержали ядро овальной или бобовидной формы со значительно конденсированным хроматином, небольшой объем цитоплазмы низкой электронной плотности с умеренным количеством полисом и рибосом. Другие органеллы (митохондрии, мелкие каналы эндоплазматической сети, элементы комплекса Гольджи) в небольшом количестве группировались вблизи центриолей около ядерного углубления.

При вторичном периодонтите лимфоциты гранулем содержали ядра с менее конденсированным хроматином, более выраженный объем цитоплазмы с развитыми органеллами, располо-

женными равномерно в парануклеарном пространстве, что свидетельствовало о повышении функциональной активности данных клеток.

Плазмоциты, которые при первичном периодонтите встречались в единичных случаях, имели признаки ограниченной функциональной активности и неизмененную ультраструктуру, ядро с преимущественно конденсированным хроматином и «светлый дворик» с умеренной осmioфилией (рис. 1). При вторичном процессе в ткани гранулемы многочисленные плазматические клетки содержали активное ядро, развитую цитоплазму с большим количеством фиксированных рибосом. Плазмоциты содержали развитый пластинчатый аппарат и уплотнения цитоплазмы, определяемые на светоптическом уровне как русселевские тельца, которые свидетельствовали о гиперпродукции и накоплении иммуноглобулинов, что характерно для хронических иммунозависимых воспалительных процессов.

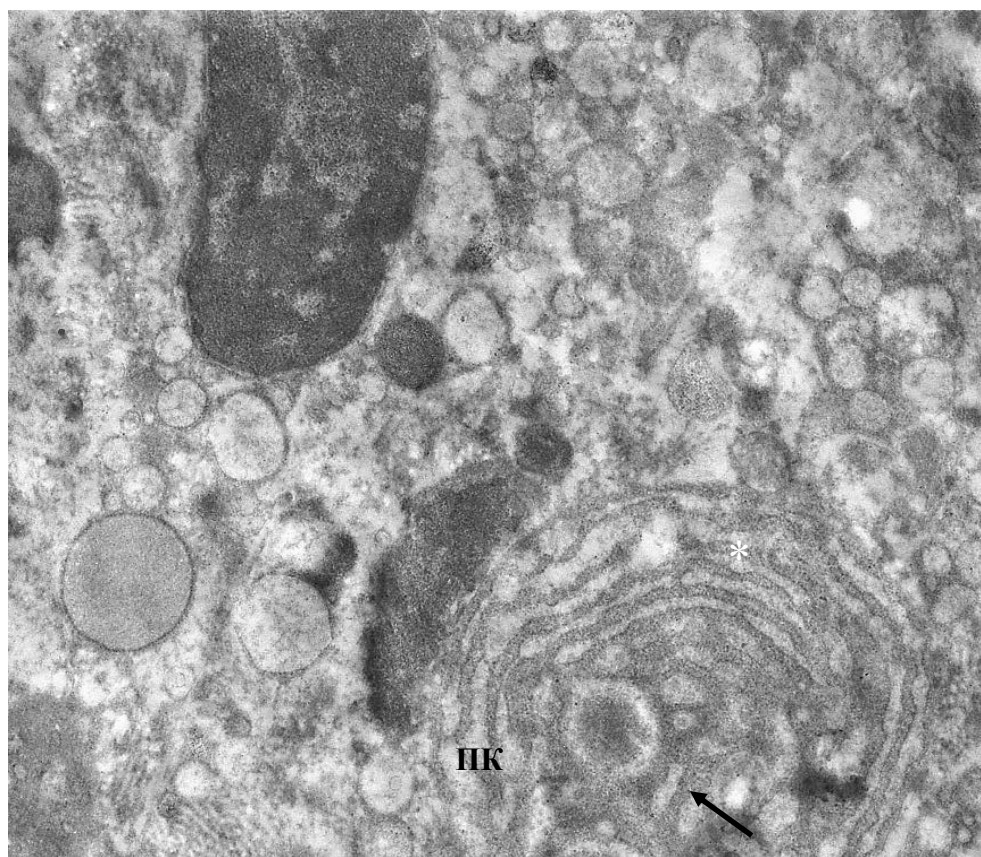


Рис. 1. Участок плазматической клетки (ПК) в составе периапикальной гранулёмы пациента с первичным хроническим гранулематозным периодонтитом. Низкая активность ядра, незначительная осmioфилия «светлого дворика» (стрелка). Умеренная синтетическая активность гранулярного ретикулума.  $\times 8000$ .

Тучные клетки в обеих клинических группах характеризовались значительным полиморфизмом, встречались в ограниченном количестве по ходу кровеносных микрососудов, содержали

цитоплазматические гранулы со стабильной мембраной, что свидетельствовало об отсутствии активной фазы инициализации воспалительного процесса.



При изучении материала грануляционной ткани в первой клинической группе ультраструктура эозинофильных гранулоцитов указывала на их участие в ограничении воспалительного процесса, что проявлялось в относительно небольшом содержании специфических гранул и сохранности количества и целостности лизосом. Напротив, в ткани вторичных гранул единичные эозинофилы содержали большое количество гранул, равномерно распределенных по всей цитоплазме, а также сегменты ядра с хроматином состояния повышенной конденсации.

Нейтрофильные гранулоциты в ткани первичных гранул располагались равномерно, имели признаки низкой активности с сохранными гранулами и большим количеством гетерохроматина в ядрах. Полиморфоядерные клетки

при вторичном периодонтите в ряде случаев формировали плотные скопления, количество гранул было существенно ниже, иногда плазмалеммы нескольких соседних нейтрофилов были фрагментированы. В местах интерстициального отека и периваскулярной экссудации многие клетки проявляли активный микрофагоцитоз.

Мононуклеарные макрофаги в составе грануляционной ткани при первичном периапикальном процессе варьировали по степени своей зрелости, имели ядра неправильной формы с углублениями и типичную по ультраструктуре цитоплазму со значительным количеством митохондрий, свободных рибосом, развитым комплексом Гольджи, мультивезикулярными тельцами, лизосомами и умеренным количеством фаголизосом (рис.2).

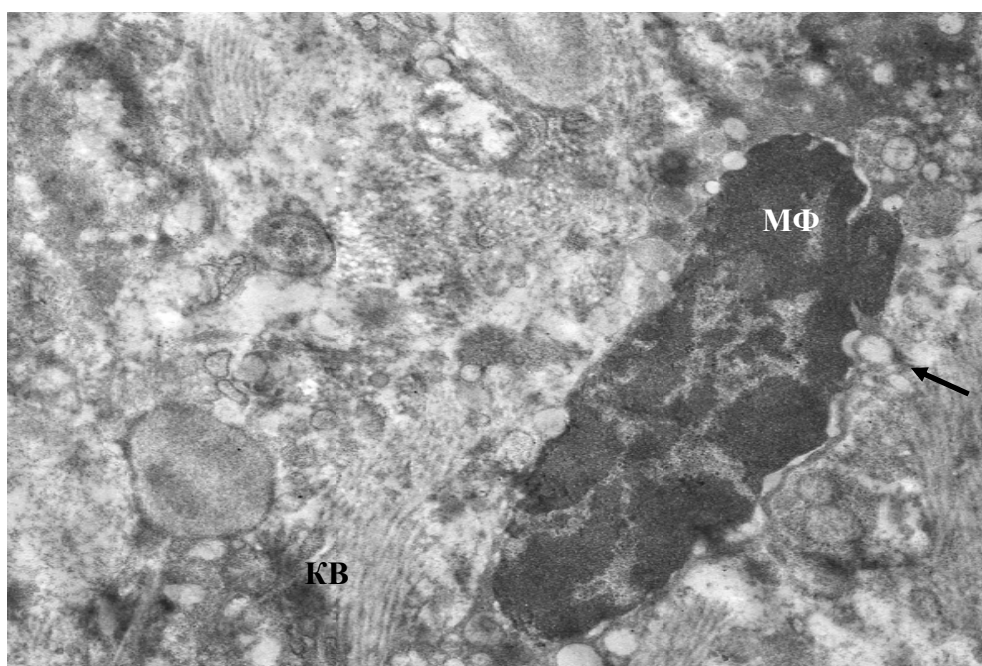


Рис. 2. Лизосомы (стрелка) в цитоплазме макрофага (МФ), граничащего с коллагеновыми волокнами (КВ) грануляционной ткани, у пациента с первичным хроническим гранулематозным периодонтитом.  $\times 8000$ .

Ультраструктура макрофагов при изучении материала грануляционной ткани во второй клинической группе свидетельствовала об их значительно более высокой функциональной активности, направленной не только на реализацию фагоцитоза, но также на антиген-репрезентирующую функцию. Кроме того, усиленное развитие гранулярного эндоплазматического ретикулума и пластинчатого аппарата указывало на формирование секреторной активности данных клеток в условиях вторичного иммунозависимого процесса у больных второй клинической группы.

В ткани гранулемы в данной группе стабильно обнаруживались гигантские многоядерные клетки, являющиеся классическим призна-

ком хронического воспаления. Роль полинуклеаров в развитии таких очагов, надо полагать, весьма значительна, о чем свидетельствуют численность и постоянное присутствие этих клеток. Многоядерные макрофаги содержали развитый синтетический и секреторный аппарат, а также обилие лизосом (рис. 3). Цитолемма формировала многочисленные складки. Учитывая, что данные клетки обладают способностью секретировать цитокины, участвующие в инициации и поддержании воспалительного процесса [9-11], можно сделать заключение о поддержании существенной активности иммунных процессов в ходе течения вторичного периодонтита.

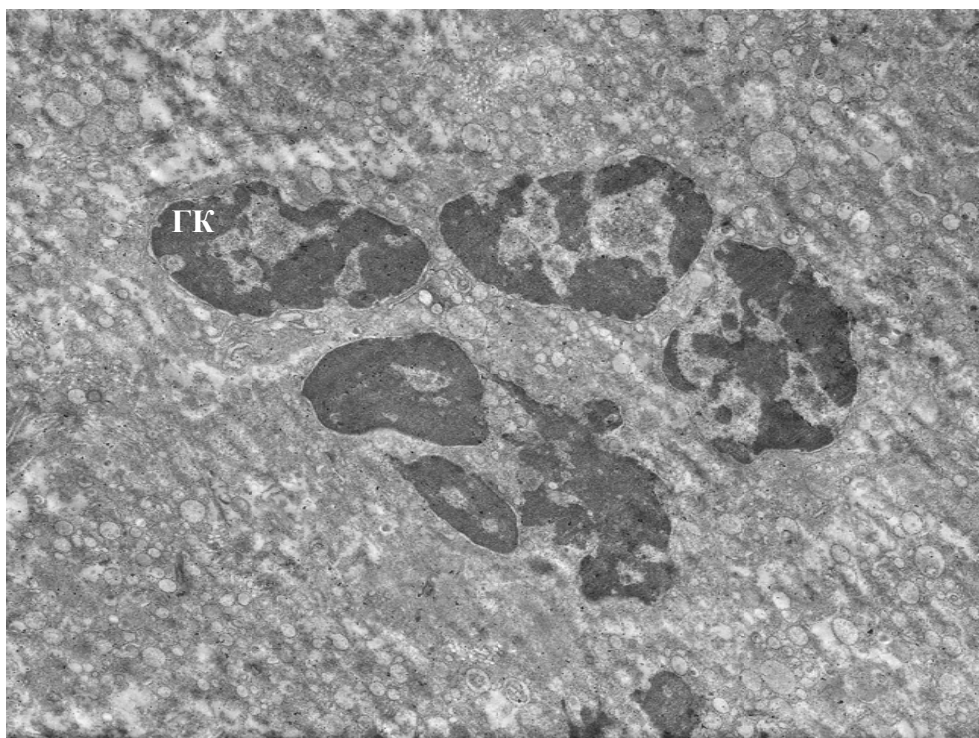


Рис.3. Гигантская многоядерная клетка в составе периапикальной гранулемы пациента с вторичным хроническим гранулематозным периодонтитом.  $\times 4000$ .

Фибробласты в обеих клинических группах содержали хорошо развитые органеллы внутренней метаболической среды, ориентированной на анаэробные пути энергообмена. Ядерная активность фибробластов в составе первичных гранул существенно превосходила соответствующие признаки, характерные для вторичного периодонтита. Аналогичным образом синтетическая активность фибробластов в первой клинической группе, определяемая по состоянию гранулярной эндоплазматической сети и пластинчатого комплекса, значительно превосходила таковую во второй группе пациентов, что отражает интенсификацию тканеобразующих процессов при формировании первичной гранулемы и их торможение – при вторичной.

Таким образом, клеточный состав периапикальной грануляционной ткани при хроническом верхушечном периодонтите включает различные типы тканеобразующих и гематогенных клеток, однако соотношение иммунокомпетентных клеточных форм и их ультраструктура неодинаковы в первичных и вторичных гранулемах. Результаты морфологического исследования показали, что в патогенезе хронических периапикальных воспалительных процессов принимают участие как реакции клеточного иммунитета, так и гуморального, однако при вторичном верхушечном периодонтите преобладают более выраженные иммунные процессы, чем при первичном хроническом периодонтите, что требует рассмотрения вопроса о дополнительной местной иммунологи-

ческой коррекции при лечении деструктивных форм данного заболевания.

#### Выводы

1. Полученные результаты морфологического исследования позволяют утверждать, что в развитии деструктивного воспаления периодонта активное участие принимают как специфические, так и неспецифические механизмы иммунитета.

2. При первичном хроническом периодонтите периапикальная грануляционная ткань содержит умеренное количество диффузно расположенных лейкоцитов различных типов, а также единичные мононуклеарные макрофаги и плазмциты с ультраструктурными признаками ограниченной функциональной активности.

3. При вторичном хроническом периодонтите периапикальная гранулема содержит многочисленные мононуклеарные макрофаги, плазмциты и гигантские многоядерные клетки с повышенной фагоцитарной, антиген-репрезентирующей и секреторной активностью, что соответствует морфологической картине формирования иммунной гранулемы.

#### Перспективы дальнейших разработок

Изложенные результаты представляют собой часть исследований по изучению различий первичного и вторичного хронического периодонтита. Полученные данные указывают на необходимость проведения дальнейших исследований с целью поиска эффективных средств для лечения деструктивных форм периодонтита.

## Литературные источники References

1. Walton RE. Routine histopathologic examination of endodontic periradicular surgical specimens – is it warranted. *Oral Surg Endod.* 1998;86(5):505.
2. Haapasalo H, Siren E, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int End J.* 2000;2(33):126.
3. Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004;15:348-81.
4. Rabuhina HA, Grigor'yan AC, Grigor'yants LA, Badaljan VA [Comparison of radiographic, clinical and morphological parameters with radicular destructive lesions]. *Clinical Dentistry.* 1999;3:24-7. Russian.
5. Tanomaru-Filho M, Polisel-Neto A, Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru JMG, Ito IY. Methods of experimental induction of periapical inflammation. Microbiological and radiographic evaluation. *Int Endod J.* 2005;38:477-82.
6. Kabak SL, Kabak YuS, Anishchenko SL, Kolb YeL. [Cellular composition of periapical granuloma]. *Vestsi NAS Belarusi. Ser med navuk.* 2009;1:44-50. Russian.
7. Sarkisov DS, Perov YL. *Mikroskopi-cheskaya tekhnika. Rukovodstvo dlya vrachey i laborantov* [Microscopic technique. A guide for doctors and laboratory technicians]. Moscow: Medicine; 1996. 544 p. Russian.
8. Weekly B. *Elektronnaya mikroskopiya dlya nachinayushchikh* [Electron microscopy for beginners]. Moscow: Mir; 1975. 324 p. Russian.
9. Hernandez-Pando R, Bornstein QL, Aguilar Leon D, Orozco EH, Madrigal VK, Martinez CE. Inflammatory cytokine production by immunological and foreign body multinucleated giant cells. *Immunology.* 2000;100(3):352-8.
10. Anderson JM. Multinucleated giant cells. *Curr Opin Hematol.* 2000;7:40-7.
11. Zhu XW, Friedland JS. Multinucleate giant cells and the control of chemokine secretion in response to *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Immunol.* 2006;120:10-20.

**Гриценко П.І., Петрук Н.С., Самойленко А.В., Твердохліб І.В.** Клітинний склад і ультраструктура періапікальної грануляційної тканини при первинному і вторинному хронічному періодонтиті.

**Реферат.** Метою даної роботи було вивчення клітинного складу і ультраструктурних особливостей грануляційної тканини, що формується в ході первинного та вторинного верхівкового періодонтиту. Морфологічний аналіз показав, що при первинному періодонтиті грануляційна тканина містить помірну кількість лейкоцитів різних типів, а також поодинокі макрофаги і плазмоцити з обмеженою функціональною активністю. При вторинному періодонтиті тканина гранульоми містить численні мононуклеарні макрофаги, плазмоцити і гігантські багатоядерні клітини з підвищеною активністю, що відповідає морфологічній картині формування імунної гранульоми.

**Ключові слова:** первинний хронічний періодонтит, вторинний хронічний періодонтит, гістоструктура, ультраструктура.