

Механизмы местной защиты слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух

Д.м.н., проф. С.Б. БЕЗШАПОЧНЫЙ, д.м.н., доц. Ю.А. ГАСЮК, к.м.н., доц. В.В. ЛОБУРЕЦ, асс. А.Б. ВАХНИНА

Кафедра оториноларингологии с травматологией и ортопедией (зав. — проф. С.Б. Безшапочный) Украинской медицинской стоматологической академии, Полтава

The mechanisms of local protection of the mucous membrane of the nasal cavity and paranasal sinuses

S.B. BEZSHAPOCHNY, YU.A. GASYUK, V.V. LOBURETS, A.B. VAKHNINA

The Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava

Цель исследования — изучение механизмов местной защиты слизистой оболочки полости носа и ОНП. В статье представлены оригинальные морфологические исследования, посвященные изучению механизмов местной защиты слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух. Материал для исследования получили во время вскрытия лиц, умерших от заболеваний, не связанных с оториноларингологической патологией. Из материала изготавливали препараты, которые окрашивали различными гистологическими и гистохимическими методами окраски. Кроме этого, проводились иммуногистохимические исследования с использованием моноклональных антител к специфическим маркерам макрофагов, Т- и В-лимфоцитов. В результате исследований установлено, что в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух существуют совершенно разные в структурно-функциональном отношении барьеры, а именно: мукоцилиарный, лимфоэпителиальный, мукоглангулярный и стромально-сосудистый (интерстициальный). В норме эти барьеры обеспечивают защиту слизистой на разных уровнях. Вместе с тем нарушение функции или повреждение одного, более поверхностно расположенного механизма местной защиты, автоматически вызывает активацию другого.

Ключевые слова: слизистая оболочка, механизм местной защиты.

The objective of the preset study was to elucidate the mechanisms of local protection of the mucous membrane of the nasal cavity and paranasal sinuses based on the results of original morphological investigations. The materials for the study were obtained at autopsy on the patients who had died from the diseases unrelated to otorhinolaryngological pathology. The preparations for histological and immunohistochemical studies were obtained by routine staining techniques. Moreover, some immunohistochemical studies were carried out with the use of monoclonal antibodies against specific markers of macrophages, T- and B-lymphocytes. It was shown that the mucous membranes of the nasal cavity and paranasal sinuses contain mucociliary, lymphoepithelial, mucoglandular, and stromal-vascular (interstitial) barriers totally different in terms of structural and functional characteristics. Under normal conditions, these barriers serve to protect mucosa at different levels. At the same time, functional or structural disturbance of one of the superficially located mechanisms of local protection induces activation of another.

Key words: mucosa, local defense mechanism.

Полость носа вместе с околоносовыми пазухами (ОНП) в структурно-функциональном отношении представляют собой единую систему воздухоносных полостей. Являясь начальным отделом дыхательных путей, эта система обеспечивает кондиционирование вдыхаемого воздуха, которое заключается в его очистке, обезвреживании, терморегуляции и увлажнении. Этот самый сложный биокондиционер способен задерживать более 90% микроорганизмов и инородных частиц, попадающих во время вдоха [1–4].

Ключевая роль в выполнении указанных функций полости носа и околоносовых пазух принадлежит слизистой оболочке. Последняя является сложно организованной системой, состоящей из эпителия, стромы, желез, сосудистых элементов, а также нервного аппарата, и функционирует в результате их сложнейших межтканевых интегративных взаимодействий. Имея в общих чертах однотипное строение, слизистая оболочка в различных отделах

полости носа и ОНП в структурно-функциональном отношении несколько отличается [5, 6].

В современной литературе существует множество интересных работ, посвященных структуре и функции слизистых оболочек верхних дыхательных путей. Вместе с тем вопрос о механизмах местной защиты слизистой оболочки полости носа и ОНП практически не изучен. Поэтому исследование в данном направлении является актуальным и перспективным и в дальнейшем позволит разработать схемы патогенетического лечения в зависимости от глубины поражения слизистой оболочки.

Цель данного исследования — изучение механизмов местной защиты слизистой оболочки полости носа и ОНП.

Объект и методы

Материалом для исследования стали слизистая оболочка полости носа и ОНП, которые получили во время

вскрытия лиц, умерших от заболеваний, не связанных с оториноларингологической патологией. Из полученного материала, согласно общепринятой методике, изготавливали препараты, которые окрашивали гематоксилином и эозином, фуксилином по Харту с подкрашиванием пикрофуксином по ван Гизону, окраской по способу Маллори, ШИК-реакцией — альциановым синим с подкрашиванием по способу Бергмана. В процессе иммуногистохимических исследований использованы моноклональные антитела к специфическому маркеру макрофагов — CD68, к маркеру Т-лимфоцитов — CD6 и к маркеру В-лимфоцитов — CD20. Изучение окрашенных препаратов проводилось на цифровом светооптическом микроскопе Olympus BX41 с использованием объективов $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, а их фотосъемка — на цифровую фотокамеру Olympus C 4040 («Olympus Medical Systems Corporation», Япония).

Результаты и обсуждение

Проведенное исследование свидетельствует, что слизистая оболочка полости носа и ОНП покрыты многорядным мерцательным эпителием. Под эпителием расположен собственный слой, представленный в поверхностных отделах рыхлой, а в более глубоких — плотной соединительной тканью. В нем определяются микрососуды (артериолы, вены и капилляры), фибробласты и фиброциты с вытянутыми ядрами, а также ацинусы и выводные протоки слизистых и серозных желез.

Многорядный мерцательный эпителий состоит из мерцательных, бокаловидных, коротких и длинных вставочных, а также микроворсинчатых клеток. Ядра мерцательных клеток расположены в апикальной части их цитоплазмы. Ядра микроворсинчатых эпителиоцитов образуют второй ряд и определяются в центральной части цитоплазмы. Расположение ядер бокаловидных клеток напрямую зависит от фазы секреторного цикла. Ядра коротких и длинных вставочных клеток расположены непосредственно возле базальной мембраны. Таким образом, многорядность мерцательного эпителия обусловлена выраженной структурно-функциональной разнородностью его клеточного состава.

Собственные гистохимические исследования позволили идентифицировать клеточные элементы многорядного мерцательного эпителия. Так, на препаратах, окрашенных комбинированным методом ШИК-реакция — альциановый синий с подкрашиванием по способу Бергмана, четко визуализируются бокаловидные клетки, альциан-положительная цитоплазма которых интенсивно окрашивается в голубой цвет. В то же время цитоплазма других эпителиоцитов имеет розовый цвет. В собственном слое определяются микрососуды и волокнистые структуры, а в более глубоких отделах — ацинусы и протоки желез. При этом отдельные дольки, а также междольковые протоки интенсивно окрашиваются в красный цвет. Это свидетельствует, что в данных структурах синтезируется, а также выделяется ШИК-положительный секрет, представленный нейтральными мукопротеидами (рис. 1 на цв. вклейке).

Поскольку в состав ресничек входит гидрофобный протеин тубулин, то с целью идентификации мерцательных клеток нами предложено использовать гистохимическую окраску препаратов по способу Маллори. При этом

на апикальной поверхности мерцательных клеток четко визуализируются многочисленные реснички, которые образуют волнообразную поверхность. Ножки ресничек расположены в апикальной части цитоплазмы и формируют Маллори-положительные диски. Ядра мерцательных эпителиоцитов имеют вытянутую или овальную форму и базофильную окраску (рис. 2 на цв. вклейке).

В зонах роста — криптах многорядный мерцательный эпителий имеет несколько иную структурно-функциональную организацию. Зоны роста представляют собой неглубокие инвагинации эпителия в подлежащую рыхлую соединительную ткань собственного слоя. В этих участках определяются бокаловидные клетки, которые находятся на разных фазах секреторного цикла, а также единичные мерцательные эпителиоциты. Среди них расположены микроворсинчатые клетки, которые содержат ядра различной формы. На нечетко контурированной базальной мембране определяются короткие и длинные вставочные клетки. Рыхлая соединительная ткань собственного слоя васкуляризирована более интенсивно. В ней определяются многочисленные мелкие периваскулярные лимфоидно-клеточные инфильтраты.

Проведенные иммуногистохимические исследования свидетельствуют, что среди коротких и длинных вставочных клеток в многорядном мерцательном эпителии определяются клеточные элементы с экспрессией специфического маркера макрофагов — CD68. В подлежащей под базальной мембраной соединительной ткани также экспрессируются единичные CD68-положительные макрофаги. Таким образом, в норме в многорядном мерцательном эпителии определяются внутриэпителиальные макрофаги, которые репрезентируют отдельные разновидности антигенов, участвуя в формировании локального гомеостаза (рис. 3 на цв. вклейке).

В эпителии определяются также клеточные элементы с экспрессией специфического маркера Т-лимфоцитов — CD6. Одни из них располагаются возле базальной мембраны среди коротких вставочных клеток, а другие — среди мерцательных и бокаловидных эпителиоцитов. В собственном слое определяются периваскулярные лимфоидно-клеточные инфильтраты, состоящие из CD6-положительных Т-лимфоцитов.

Таким образом, в многорядном мерцательном эпителии слизистой оболочки полости носа и ОНП можно выделить две популяции клеточных элементов. Одна представлена дифференцированными мерцательными и бокаловидными эпителиоцитами. Цилиарный аппарат мерцательных клеток вместе с мукозным секретом, который выделяют бокаловидные клетки, а также слизистые и серозные железы собственного слоя на поверхности слизистой оболочки образуют мукоцилиарную транспортную систему или мукоцилиарный барьер. Мукоцилиарная активность эпителия зависит от частоты биения ресничек, а также от вязкости и эластичности слизистого секрета. В связи с этим оптимальные количественные и качественные (вязкость и эластичность) параметры мукозного секрета, а также нормальная двигательная активность цилиарного аппарата в физиологических условиях предотвращают адгезию и колонизацию попадающей во время вдоха микрофлоры. Кроме этого, мукоцилиарный транспорт препятствует контакту микроорганизмов с внутриэпителиальными макрофагами, а также дальнейшей передаче их антигенной информации на Т-лимфоциты.

При дисфункции мукоцилиарного барьера микроорганизмы проходят апикальные отделы многоядного мерцательного эпителия. В последующем они контактируют с внутриэпителиальными макрофагами, которые их фагоцитируют и разрушают. В случае, если процесс фагоцитоза незавершен, в реакцию вступают Т-лимфоциты. Их функция заключается в распознавании антигенных детерминантов, элиминации антигенов и регуляции иммунного ответа. Таким образом, сенсibilизированные лимфоциты — «Т-киллеры» узнают антигенные детерминанты и, секретирова цитотоксические лимфокины, осуществляют иммунный цитолиз.

Дифференцированные эпителиоциты обновляются каждые 4—8 нед. Мерцательные клетки теряют реснички, а в бокаловидных клетках возникает слизистая дистрофия, которая приводит к разрушению их ядер.

Другая популяция клеточных элементов многоядного мерцательного эпителия представлена микроворсинчатыми эпителиоцитами. Их апикальная поверхность содержит микроворсинки. Они осуществляют и регулируют продукцию перилимфарной жидкости — зóля. Кроме того, микроворсинчатые эпителиоциты могут дифференцироваться как в мерцательные, так и в бокаловидные клетки. В зонах роста — криптах определяется значительно большее их количество по сравнению с другими отделами эпителия. При воспалении микроворсинчатые клетки дифференцируются в бокаловидные, что приводит к бокаловидной трансформации эпителия. Вместе с тем, дифференцируясь в том или ином направлении, они способствуют регенерации эпителиального покрова слизистой оболочки, в результате чего в нем возобновляется нормальное соотношение мерцательных и бокаловидных клеток.

Таким образом, две разные популяции клеточных элементов многоядного мерцательного эпителия обуславливают его физиологический тканевый гомеостаз. С одной стороны, в эпителии постоянно происходит частичное или полное разрушение дифференцированных клеток, а с другой — пролиферация и специализация микроворсинчатых эпителиоцитов. Образующиеся в результате деструктивных процессов в эпителии антигены сначала фагоцитируются внутриэпителиальными макрофагами. В дальнейшем образованные вследствие фагоцитоза детерминанты передаются на систему Т-лимфоцитов, которая обеспечивает лизис отмерших эпителиоцитов.

Выводные протоки слизистых и серозных желез собственного слоя слизистой оболочки покрыты цилиндрическим мерцательно-микроворсинчатым эпителием. В нем отсутствуют короткие и длинные вставочные клетки, а двигательная активность цилиарного аппарата мерцательных клеток обеспечивает транспорт секрета, который образуется в ацинусах. В то же время микроворсинчатые клетки обладают способностью к его частичной реабсорбции. Под эпителием выводных протоков желез располагаются очаговые или диффузные лимфоидно-клеточные скопления (рис. 4 на цв. вклейке).

Такие лимфоидно-клеточные инфильтраты в слизистой оболочке верхних дыхательных путей известны как MALT (mucosa associated lymphoid tissue) [7—9].

Собственные иммуногистохимические исследования свидетельствуют, что эти лимфоидно-клеточные скопления представлены в основном CD20-положительными В-лимфоцитами. Последние трансформируются в плазм-

мощтарные клетки, которые синтезируют неактивную форму IgA (рис. 5 на цв. вклейке).

Молекула неактивной формы IgA имеет дисульфидные (S-S) группы. Процесс ее активации происходит во время выведение IgA на поверхность эпителия выводных протоков. При прохождении по межклеточным пространствам между эпителиоцитами в молекуле IgA дисульфидные группы расщепляются и образуются сульфгидрильные (S-H). Этому способствует гликопротеин, называемый секреторным компонентом, который продуцируют эпителиальные клетки. В результате на свободной поверхности мерцательно-микроворсинчатого эпителия выводных протоков желез возникает активная форма неспецифического IgA, который преципитирует или агглютинирует антигены микроорганизмов, а также нейтрализует их токсины. Таким образом, секреторный IgA в мукозном слое создает защитный барьер, предохраняющий слизистую от проникновения микробных и вирусных антигенов. В связи с этим в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух, помимо мукоцилиарной транспортной системы, можно выделить несколько иной в структурно-функциональном отношении механизм защиты — лимфоэпителиальный барьер.

В собственном слое слизистой оболочки расположены ацинусы желез, а также их выводные протоки. По сравнению с бокаловидными клетками, слизистые железы продуцируют более густой мукозный секрет. Серозные железы выделяют секрет с высоким содержанием белка, в котором содержатся лизоцим, лактоферрин, а также бактериолитические ферменты. Кроме этого, иногда определяются смешанные серозно-слизистые железы.

В ацинусах желез ядра секреторных клеток смещены к базальной мембране, а в их просвете определяется гомогенный секрет (рис. 6 на цв. вклейке).

Между базальной мембраной ацинуса и секреторными клетками располагаются миоэпителиальные клеточные элементы. Именно их сократительная деятельность определяет степень выделения секрета. Конфигурация миоэпителиальных клеток четко определяется при окраске по способу Маллори. Они содержат ядро вытянутой формы и темно-коричневую цитоплазму, отростки которой располагаются между секреторными клетками (рис. 7 на цв. вклейке).

Несомненно, что секрет бокаловидных клеток, а также слизистых и серозных желез отличается по реологическим свойствам. В связи с этим мукозный секрет на поверхности слизистой состоит из двух слоев: перилимфарной жидкости — зóля и вязкого поверхностного слоя — геля. По нашему мнению, золь является продуктом секреции бокаловидных клеток и слизистых желез, а гель — продуктом секреции серозных желез. В связи с этим такие различия в секреторной деятельности позволяют выделить в слизистой оболочке особый мукоглангулярный барьер.

В рыхлой соединительной ткани собственного слоя располагаются микрососуды, проходящие параллельно по отношению к базальной мембране, а также пенетрирующие сосуды, которые отходят от предыдущих. Между микрососудами определяются клеточные элементы лимфоидного и фибробластического ряда.

Собственные иммуногистохимические исследования свидетельствуют, что эти лимфоидно-клеточные скопления представлены в основном CD20-положительными

В-лимфоцитами, их производными — плазмочитами, а также единичными лаброцитами. Плазмочиты содержат эксцентрично расположенное ядро, а их цитоплазма — светло-коричневые гранулы. Лаброциты имеют большие размеры. В их цитоплазме также определяются гранулы темно-коричневого цвета. Одни лаброциты имеют сохраненные контуры цитоплазмы, а в других она разрушается, что сопровождается выходом гранул в интерстиций (**рис. 8 на цв. вклейке**).

Благодаря синтезу и секреции биологически активных веществ, лаброциты поддерживают гомеостаз соединительной ткани. Согласно данным литературы [10—12], они имеют три структурно-функциональных состояния. Лаброциты с апокриновым типом секреции выделяют гиалуроновую кислоту, которая увеличивает проницаемость сосудистой стенки, соединительной ткани, а также базальной мембраны эпителия. Лаброциты с мерокриновым типом секреции продуцируют и выделяют серотонин или гистамин. Гистамин обладает нейротрансмиттерным действием как на нервные окончания, так и на сосудистую стенку и вызывает расширение кровеносных сосудов. Таким образом, эти разновидности лаброцитов влияют на состояние микроциркуляторного русла слизистой оболочки, обеспечивая ее реакцию на влияние экзогенных факторов. Лаброциты с голокриновым типом секреции и практически полностью разрушенной цитоплазмой располагаются, как правило, в плотной соединительной ткани, которая характерна для более глубоких отделов собственного слоя. Они синтезируют и соответственно выделяют ФАТ — фактор, активирующий тромбоциты. Эта биологически активная субстанция усиливает сосудистую проницаемость, вызывает отек и стимулирует лимфоидно-клеточную инфильтрацию слизистой оболочки.

В связи с этим в слизистой оболочке можно выделить еще один механизм местной защиты — стромально-сосудистый или интерстициальный барьер, который в норме поддерживает гомеостаз соединительной ткани собственного слоя.

Таким образом, в слизистой оболочке полости носа и ОНП существуют абсолютно разные в структурно-функциональном отношении барьеры, а именно: мукоцилиарный, лимфоэпителиальный, мукогландулярный и стро-

мально-сосудистый (интерстициальный). Эти барьеры обеспечивают защиту слизистой оболочки на разных уровнях. Нарушение функции или повреждение одного, более поверхностно расположенного механизма местной защиты, автоматически вызывает активацию другого.

Безусловно, что функциональное значение того или иного механизма местной защиты в различных отделах полости носа и ОНП неодинаково. В связи с этим дальнейшее изучение структурно-функциональной организации слизистой оболочки полости носа и ОНП, а также механизмов защиты последней является актуальным и перспективным направлением научно-практических исследований.

Выводы

1. Цилиарный аппарат мерцательных клеток вместе с мукозным секретом, который выделяют бокаловидные клетки, а также слизистые и серозные железы на поверхности слизистой оболочки образуют мукоцилиарную транспортную систему, или мукоцилиарный барьер.

2. Очаговые и диффузные скопления В-лимфоцитов и их производных вместе с мерцательно-микроворсинчатым эпителием выводных протоков желез образуют лимфоэпителиальный барьер слизистой оболочки. Синтезированный плазмочитами и активированный в эпителии неспецифический секреторный IgA в муциновом слое преципитирует и агглютинирует антигены микроорганизмов, а также нейтрализует их токсины.

3. Мукогландулярный барьер представлен ацинусами слизистых и серозных желез, а также их выводными протоками, которые продуцируют и выделяют более густой по сравнению с бокаловидными клетками секрет. В связи с этим мукозный секрет на поверхности слизистой состоит из двух слоев: збля — продукта секреции бокаловидных клеток и слизистых желез и более вязкого геля — продукта секреции серозных желез.

4. Стромально-сосудистый или интерстициальный барьер расположен в собственном слое слизистой оболочки и представлен рыхлой или плотной соединительной тканью, гомеостаз которой благодаря синтезу и секреции биологически активных веществ поддерживают лаброциты.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Быкова В.П.* Слизистая оболочка носа и околоносовых пазух как иммунный барьер верхних дыхательных путей. *Рос ринолог* 2000; 1: 33—36.
2. *Пискунов С.З., Пискунов Г.З., Харченко В.В., Должиков А.А.* Функциональная анатомия и хирургия носа и околоносовых пазух. Курск: КГМУ 2004.
3. *Рихельманн Г., Лопатин А.С.* Мукоцилиарный транспорт: экспериментальная и клиническая оценка. *Рос ринолог* 1994; 4: 33—47.
4. *Proctor D.F.* The mucociliary system. In: D.F. Proctor. The nose: Upper airway physiology and the atmospheric environment. Amsterdam: Elsevier 1982; 26—31.
5. *Пискунов Г.З., Пискунов С.З.* Клиническая ринология. М: Миклош 2002.
6. *Плужников М.С., Шантуров А.Г., Лавренова Г.В., Носуля Е.В.* Слизистая оболочка носа, механизмы гомеостаза и гомеоксизма. СПб: Медицина 1995.
7. *Быкова В.П.* Структурные основы мукозального иммунитета верхних дыхательных путей. *Рос ринолог* 1999; 1: 5—11.
8. *Мельников О.Ф., Заболотный Д.И.* Диагностика иммунодефицитов при патологии слизистой оболочки на основе определения иммуноглобулинов в секретах. Киев: Институт оториноларингологии им. Колумийченко АМН Украины 2003.
9. *Mygind N., Winter B.* Immunological barriers in the nose and paranasal sinuses. *Acta Otolaryng* 1987; 103: 363—368.
10. *Быков В.Л.* Секреторные механизмы и секреторные продукты тучных клеток. *Морфология* 1999; 115: 64—72.
11. *Виноградов В.В., Воробьев Н.Ф.* Тучные клетки. Новосибирск: Наука 1973; 126.
12. *Серов В.В., Пауков В.С.* Воспаление. М: Медицина 1995; 640.