

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНОЙ ПАЗУХИ ПРИ ОДОНТОГЕННЫХ СИНУСИТАХ С ФОРМИРОВАНИЕМ АСПЕРГИЛЛЕМЫ

¹Байдик О.Д. (докторант)*, ²Сысолятин П.Г. (профессор кафедры), ¹Логвинов С.В. (зав. кафедрой)

¹Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России; ²Кафедра госпитальной хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России

© Коллектив авторов, 2011

Отличительными особенностями слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи при одонтогенных синуситах с формированием аспергиллемы явились атрофия и дистрофия эпителиоцитов, выраженные плазморрагии, отек и истончение собственной пластинки. Строма слизистой оболочки пазухи умеренно инфильтрирована мононуклеарными клетками с ведущей ролью макрофагов, лимфоцитов и плазмоцитов.

Ключевые слова: аспергиллез, морфология, одонтогенный синусит, ультраструктура

THE PATHOMORPHOLOGY AND ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF A MUCOUS MEMBRANE OF MAXILLARY SINUS AT ODONTOGENIC SINUSITES WITH ASPERGILLOMA FORMATION

¹Baydik O.D. (PhD student), ²Sysolyatin P.G. (professor of chair), ¹Logvinov S.V. (head of the chair)

¹Chair of Histology, Cytology and Embryology of Siberian State Medical University; ²Chair of Hospital Surgical Dentistry and Maxillofacial Surgery of Novosibirsk State Medical University, Russia

* Контактное лицо: Байдик Ольга Дмитриевна тел. 8-(382-2)-52-74-04

© Collective of authors, 2011

Distinctive features of mucous membrane of maxillary sinus at odontogenic sinusitis with formation aspergilloma were atrophy and dystrophy epithelial cells, expressed plasmorrhagia, hypostasis and thin own plate. Strom of sinus mucous membrane moderately was infiltrated mononuclear cells with the leading part of macrophages, lymphocytes and plasma-cells.

Key words: aspergillosis, morphology, odontogenic sinusitis, ultrastructure

В последние годы отмечают возрастание частоты верхнечелюстных синуситов грибковой этиологии, обусловленных ростом числа пациентов, имеющих какие-либо факторы риска, а также и улучшением диагностики [1, 2]. W. J. Fokkens et al. [3] выделяют 5 форм грибковых заболеваний околоносовых пазух: острый инвазивный риносинусит, хронический инвазивный риносинусит, гранулематозный инвазивный риносинусит, грибковый шар (мицетома, или аспергиллема), неинвазивный (аллергический) грибковый синусит. Наиболее распространенной формой микоза верхнечелюстных пазух синусов является грибковое «тело» [4, 5]. Возбудителями этой группы заболеваний чаще всего являются условно-патогенные плесневые грибы из рода *Aspergillus* [6]. Аспергиллема пазух – это хроническое неинвазивное заболевание; при нем грибы не проникают в слизистую оболочку или под нее, костные стенки пазухи не разрушаются. Однако возможен переход этой формы синусита в хроническую или острую инвазивную форму при ухудшении состояния организма, тяжелом развитии иммунодефицита. Инфицирование происходит по аэрогенному, контактному или одонтогенному путям [6]. В последнее время все чаще регистрируют одонтогенное заражение верхнечелюстных синусов, связанное с выведением пломбировочного материала в пазуху [6, 7]. Установлено, что оксид цинка и бария сульфат, содержащиеся в пломбировочных материалах для корневых каналов, снижают функцию ресничек мерцательных клеток, нарушают мукоцилиарный клиренс и являются питательной средой для пролиферации и активации метаболизма *Aspergillus* spp. [8, 9]. Несмотря на отдельные публикации, касающиеся микозов одонтогенного происхождения, вопросы патоморфоза остаются мало изученными. Поэтому комплексное морфологическое исследование особенностей строения слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи (СО ВЧП) при одонтогенном грибковом синусите является актуальным, поскольку дает возможность оценить реактивные изменения слизистой оболочки не только на тканевом, но и на ультраструктурном уровне.

Цель исследования – изучить морфофункциональные изменения СО ВЧП при одонтогенных синуситах с формированием аспергиллемы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В период с 2000 по 2010 гг. было обследовано 116 больных с диагнозом «хронический одонтоген-

ный грибковый синусит» в возрасте от 18 до 42 лет (средний возраст – $29,18 \pm 3,42$ г.). Диагноз ставили на основании результатов клинических, лучевых, эндоскопических и микробиологических методов исследования. При микологическом исследовании грибковое тело идентифицировали как род гриба *Aspergillus*. Видовую принадлежность не определяли. У 14 пациентов, с верифицированным диагнозом «аспергиллёма», проведено комплексное морфологическое исследование СО ВЧП. Контрольная группа представлена биоптатами визуально неизменной СО ВЧП, полученными в ходе оперативных вмешательств по поводу ретенционных кист у 6 пациентов. Возраст больных от 17 до 26 лет (средний возраст – $23,83 \pm 2,51$ год).

Все проводимые исследования были одобрены локальным этическим комитетом и выполнялись с письменного согласия пациентов.

Для световой микроскопии биоптаты фиксировали в 10% нейтральном формалине, после стандартной обработки парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, ставили PAS-реакцию. В полученных препаратах изучали состояние эпителия, определяли численную плотность клеточных элементов (лимфоцитов, макрофагов, плазмоцитов) собственной пластинки СО ВЧП (в 1 мм²), относительное содержание сосудов с явлениями стаза и тромбоза в собственной пластинке СО ВЧП (в %).

Изучение ультраструктуры слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии [10]. Фрагменты ткани фиксировали в 4% растворе параформальдегида, постфиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия, обрабатывали по стандартной методике и заключали в смесь эпон и аралдита. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме «Ultratome III» (LKB, Швеция). Полутонкие срезы окрашивали 1% раствором азура II или толuidиновым синим и исследовали в световом микроскопе. Ультратонкие срезы наносили на сетки-подложки с формваровой пленкой-подложкой и контрастировали 2% раствором уранилацетата и цитратом свинца. Полученные препараты исследовали в электронном микроскопе «JEM-100 CXII» («JEOL», Япония).

Статистическую обработку проводили при помощи пакета программ Statistica 6.0 for Windows. Данные анализировали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Для оценки взаимосвязи между параметрами применяли коэффициент корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе слизистая оболочка верхнечелюстной пазухи была выстлана многорядным реснитчатым эпителием [11]. Отличительными особенностями биоптатов с неинвазивной формой аспергиллеза явились атрофия и дистрофия эпителиоцитов, выраженные плазморрагии, отек и истончение собственной пластинки. Отмечали уменьшение

высоты эпителиоцитов или их уплощение (Рис. 1).

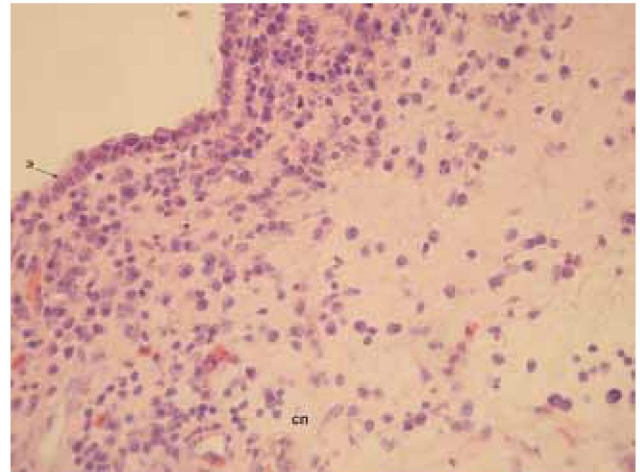


Рис. 1. Слизистая оболочка верхнечелюстной пазухи пациентки при одонтогенном синусите с формированием аспергиллемы. Окраска гематоксилином и эозином. (Э – показан эпителий, СП – собственная пластинка). Ув. 400

Нередко эпителий не представлял единого пласта. На некоторых участках он имел вид многорядного мерцательного с преобладанием ШИК-позитивных бокаловидных клеток.

Собственная пластинка была отечна и умеренно инфильтрирована клеточными элементами. Клеточная инфильтрация имела, в целом, диффузный характер и была представлена мононуклеарными клетками с ведущей ролью макрофагов, лимфоцитов и плазмоцитов (табл.).

Таблица

Содержание клеточных элементов в собственной пластинке СО ВЧП при грибковых синуситах ($M \pm m$)

Показатель	Грибковый синусит (n=14)	Контрольная группа (n=6)
Макрофаги, $\cdot 10^3$	$179,7 \pm 32,7$	$21,5 \pm 4,5^*$
Лимфоциты, $\cdot 10^3$	$135,4 \pm 14,2$	$68,9 \pm 7,8^*$
Плазмоциты, $\cdot 10^3$	$112,4 \pm 24,3$	$57,3 \pm 8,4^*$

Примечание: * – различие статистически значимо ($p < 0,05$).

Лимфоциты в 100% случаев формировали крупные инфильтраты, расположенные вокруг подэпителиальных венозных сосудов, и в глубоких отделах собственной пластинки – периартериоларно. Плазмоциты в подэпителиальной зоне диффузно рассеяны, а в глубоких слоях собственной пластинки формировали округлые инфильтраты. Макрофаги, рассредоточенные по всей строме, интра- и периваскулярно образовывали небольшие агрегаты. Среди клеток макрофагального ряда определяли скопления эпителиоидных клеток, окруженные лимфоцитарным валом. Между Т-лимфоцитами и макрофагами существуют реципрокные связи. Т-хелперы способны вырабатывать интерферон- γ , который активирует макрофаги [12]. Взаимодействие между макрофагами и лимфоцитами нашло свое отражение в наличии положительной корреляционной связи между содержанием этих клеточных популяций ($r=0,52$,

$p=0,0007$). Активированные макрофаги обладают цитотоксическими свойствами за счет кислородных радикалов, фактора некроза опухоли α , протеаз и мурмидазы [12]. Сосуды с выраженными нарушениями гемодинамики, из них $86,57 \pm 2,78\%$ – с явлениями сладжа и тромбоза (в контроле – $1,2 \pm 0,3\%$, $p < 0,05$). Артериолы содержали крупные сладж-комплексы. Отмечали обширные геморрагии и плазморрагии. Разволокненные коллагеновые волокна теряли свое правильное упорядоченное положение.

В случаях значительной клеточной инфильтрации, помимо клеток макрофагального ряда, обнаруживали скопления интра- и периваскулярно расположенных тучных клеток и эозинофилов.

При электронно-микроскопическом исследовании эпителиоциты эндотелиоподобной или призматической формы были без признаков специализации на реснитчатые или бокаловидные клетки. В электронно-прозрачной цитоплазме определяли единичные митохондрии, короткие цистерны гранулярной эндоплазматической сети (ЭПС), малое число рибосом. В базальной части цитоплазмы располагалось овальной или неправильной формы ядро. Последнее содержало декоденсированный хроматин с тонкой маргинальной полоской гетерохроматина. Кариолема образовывала неглубокие инвагинации. В подъядерной зоне визуализировались тонкие пучки тонофиламентов (Рис. 2).

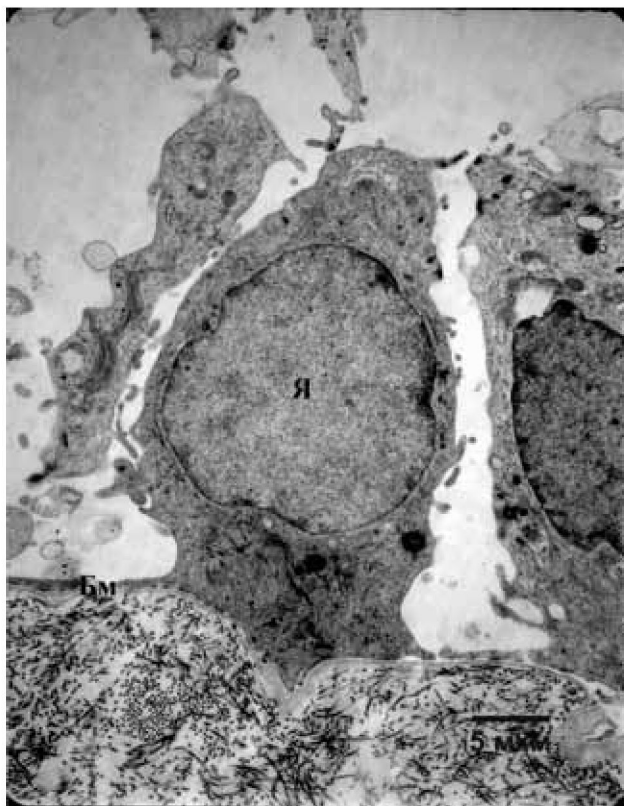


Рис. 2. Эпителий СО ВЧП пациентки при одонтогенном синусите с формированием аспергиллемы. (Я – ядро эпителиоцита, Бм – базальная мембрана). Ув. 2000

Все это свидетельствует не только о снижении белок-синтетической и пластической функций эпи-

телиоцитов, но и об их дегенеративных изменениях. Подобную картину – десквамацию эпителиоцитов описали Tomee J. E. et al. [13] при обработке культур клеток протеазами *A. fumigatus*. Используя различные ингибиторы, авторы установили роль сериновых протеаз в процессе разрушения клеточного слоя. Базальная мембрана сохраняла тонкофибрилярное строение и была местами неравномерно утолщена, главным образом, за счет ее темной части.

В собственной пластинке популяция тканевых базофилов отличалась функциональной разнородностью. Часть из них находилась в стадии дегрануляции, при этом секрет гранул имел относительно гомогенную структуру, что свидетельствовало об его незрелости. Коллагеновые волокна в зоне расположения гранул подвергались мукоидному набуханию. Некоторые тучные клетки имели овальное эухромное ядро с ровными контурами кариолеммы. Секреторные гранулы гетерогенной структуры и плотности: сетевидной, гомогенной, часть из них опустошены. Единичные тучные клетки были апоптотически изменены (Рис. 3). Ядра таких клеток имели неправильную форму, обусловленную инвагинациями кариолеммы. Хроматин собран в грубые глыбки различной величины, часто придвинут к ядерной оболочке. Секреторные гранулы мелкие, мало дифференцированные, митохондрии вакуолизированы, кристы в них не просматривались. Апоптотические тельца содержали фрагменты цитоплазмы клетки, единичные органеллы, иногда визуализировались остатки ядерного материала. На нашем материале фагоцитоза апоптотических телец мы не наблюдали, но поблизости от таких тучных клеток, как правило, располагался макрофаг.

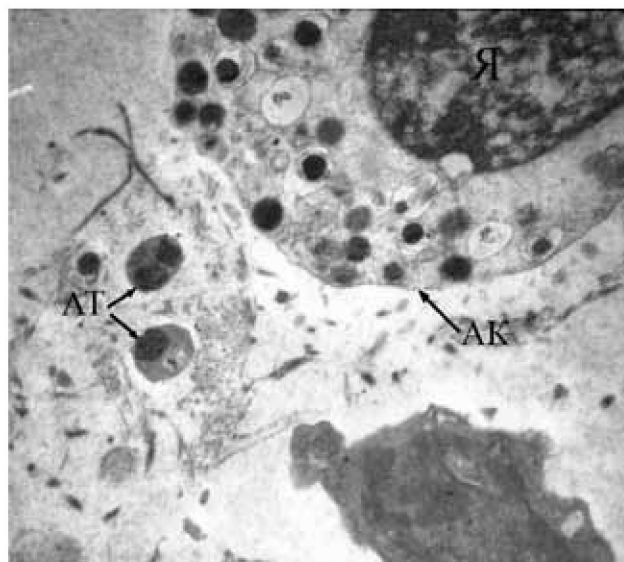


Рис. 3. Апоптоз тканевого базофила. Ув. 4 000. (АК – апоптотическая клетка, АТ – Апоптотические тельца)

Эпителиоидные клетки имели разную форму и функциональную активность. Большинство из них, представленное везикулярными формами (тип В) (Рис. 4), активно продуцировало секреторные гранулы в межклеточное пространство.

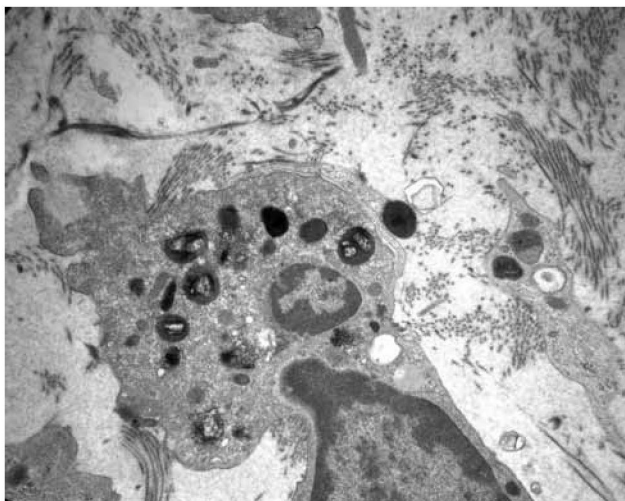


Рис. 4. Фрагмент эпителиальной клетки в собственной пластинке СО ВЧП. Ув. 4 000

В зонах расположения эпителиальных клеток выявляли участки лизиса коллагеновых волокон с их фибриноидными изменениями. Фибробласты, в большинстве своем, находились в состоянии функционального покоя. В цитоплазме некоторых фибробластов определяли набухшие митохондрии с просветленным матриксом и деструктивными кристами, крупными фагосомами, миелиноподобными тельцами.

При исследовании ультраструктуры микрососудов в биоптатах при грибковом одонтогенном синусите выявили два основных варианта эндотелиоцитов. При первом типе обращала на себя внимание альтерация эндотелиальной выстилки. Стенка кровеносных сосудов значительно истончена, с периваскулярным отеком и формирующимся склерозом. Ядра эндотелиоцитов неправильной формы с изрезанными контурами. Мелкие глыбки гетерохроматина рассеяны по нуклеоплазме, вдоль кариолеммы выражена конденсация хроматина. Цитоплазма эндотелиоцитов высокой электронной плотности, вследствие чего идентификация органелл затруднена. В околоядерной зоне определяли митохондрии с плотным матриксом со слабо визуализированными кристами. Отростки эндотелиоцитов утолщены. Люминальная поверхность эндотелиоцитов формировала неровный контур с элементами клазмоцитоза (Рис. 5).

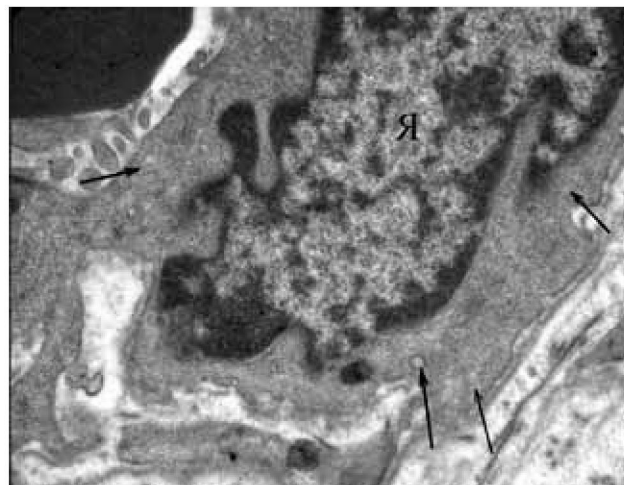


Рис. 5. Фрагмент эндотелиоцита капилляра подэпителиальной зоны. Высокое содержание пиноцитозных пузырьков в цитоплазме. (↑ – пиноцитозные пузырьки). Ув. 8 000

Микропиноцитозные пузырьки выявляли вдоль базальной и люминальной поверхностей. Единичные макровезикулы определялись вдоль базальной поверхности эндотелиоцитов. Базальная мембрана капилляров утолщена, что свидетельствует о десквамации клеток эндотелия. Другие эндотелиоциты имели умеренной электронной плотности цитоплазму. Ядра крупные полиморфные, с маргинальной полоской гетерохроматина (Рис. 6).

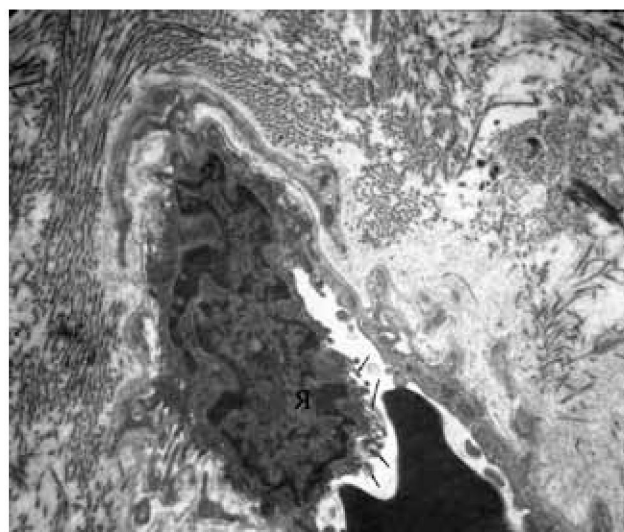


Рис. 6. Фрагмент эндотелиоцита с элементами клазмоцитоза на люминальной поверхности (↑ – элементы клазмоцитоза). Ув. 4 000

В цитоплазме определялись короткие цистерны гранулярной ЭПС, 3-4 митохондрии с редкими кристами. Люминальная поверхность имела неровный контур с явлениями клазмоцитоза. Пиноцитозные пузырьки располагались вдоль люминальной и базальной поверхностей эндотелиоцитов. Периваскулярно выражен отек собственной пластинки. Обнаружили трансэндотелиальную миграцию нейтрофильных лейкоцитов и эпителиальных клеток. В периваскулярной зоне наблюдали тучные клетки с признаками дегрануляции, иногда – свободно лежащие гранулы. В целом, изменения микроциркуля-

торного русла носили признаки дегенерации и компенсаторной гиперплазии эндотелиальных клеток, плазматическое пропитывание и гиалиноз базальной мембраны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При одонтогенных грибковых синуситах в слизистой оболочке верхнечелюстной пазухи протекают процессы специфического гранулематозного воспаления, обусловленного экзотоксинами гри-

бов, и реакции эпителия в виде однослойной метаплазии. Основными признаками внутриклеточной реорганизации эпителиоцитов являются снижение белок-синтетической и пластической функций. На отдельных участках эпителия присутствуют активно функционирующие клетки, характеризующиеся малоизмененными цитоплазматическими органеллами. Данные изменения носят адаптивно-приспособительный характер, направленный на усиление защитного потенциала СО ВЧП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Морозова О.В. Современные методы диагностики и лечения грибкового синусита // Вестн. оторинолар. – 2008. – № 6. – С. 25-28.
2. Broglie M.A., Tinguely M., Holzman D. How to diagnose sinus fungus balls in the paranasal sinus? An analysis of an institution's cases from January 1999 to December 2006 // Rhinology. – 2009. – Vol. 47, № 4. – P. 379-384.
3. Fokkens W.J., Ebbens F., van Drunen C.M. Fungus: a role in pathophysiology of chronic rhinosinusitis, disease modifier, a treatment target, or no role at all? // Immunol. Allergy Clin. North. Am. – 2009. – Vol. 29, № 4. – P. 677-688.
4. Barry B., Topeza M., Gèhanno P. Aspergillosis of the paranasal sinus and environmental factors // Ann. Otolaryngol. Chir. Cervicofac. – 2002. – Vol. 119, № 3. – P. 170-173.
5. Grosjean P., Weber R. Fungus balls of the paranasal sinuses: a review // Eur. Arch. Otorhinolaryngol. – 2007. – Vol. 264, № 5. – P. 461-470.
6. Сергеев А. Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции: Руководство для врачей. – М: БИНОМ, 2008. – 480 с.
7. Афанасьев В.В., Щипский А.В., Новосельская В.Н. Хронический одонтогенный верхнечелюстной синусит с формированием аспергилломы // Рос. стом. журнал. – 2003. – № 3. – С. 35-36..
8. Khongkhunthian P., Reichart P.A. Aspergillosis of the maxillary sinus as a complication of overfilling root canal material into the sinus: report of two cases // J. of Endodontics. – 2001. – Vol. 27. – P. 476-478.
9. Сысолятин С.П., Палкина М.О., Ашурко И.П. Верхнечелюстные синуситы, вызванные пломбировочными материалами // Челюстно-лицевая хирургия. – 2007. – №1-2. – С. 5-10.
10. Каруну В. Я. Электронная микроскопия. – Киев: «Вища школа», 1984. – 208 с.
11. Байдик О.Д., Долгун Д.А., Логвинов С.В. Бирицкая Е.В. Особенности структурной организации слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи в юношеском возрастном периоде (по данным электронной микроскопии) // Медицина в Кузбассе. Спецвыпуск. – 2009. – № 2.– С. 13-14.
12. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – М: ООО «МИА», 2003 – 604 с.
13. Tomee J.F., Wierenga A.T., Hiemstra P.S., Kauffman H.K. Proteases from *Aspergillus fumigatus* induce release of proinflammatory cytokines and cell detachment in airway epithelial cell lines// J. Infect. Dis. – 1997. – Vol.176, №1. – P. 300-303.

Поступила в редакцию журнала 11.04.2011

Рецензент: В.А. Цинзерлинг

