



7. Жемайтите Д. И. Вегетативная регуляция синусового ритма сердца у здоровых и больных / Д. И. Жемайтите. Анализ сердечного ритма: Сб. ст. – Вильнюс, 1982. – С. 22–32.
8. Лебедев В. П. Транскраниальная электростимуляция: новый подход (экспериментально-клиническое обоснование и аппаратура) / В. П. Лебедев. Транскраниальная электростимуляция. Экспериментально-клиническое исследование: Сб. статей. – СПб., 2001. – С. 22–38.
9. Вегетативный индекс Кердо как показатель первичного приспособления к условиям жаркого климата / Г. Н. Новожилов, О. В. Давыдов, К. В. Мазуров и др. // Военно-медицинский журнал. – 1969. – №8. – С. 68–69.
10. Применение транскраниальной электростимуляции для лечения больных с нейросенсорной тугоухостью / А. С. Розенблюм, В. П. Лебедев, Н. И. Краева и др. Транскраниальная электростимуляция. Экспериментально-клинические исследования: Сб. статей – СПб., 2001. – С. 454–461.
11. Рычкова С. В. Влияние транскраниальной электростимуляции на синдром вегетативных расстройств у детей с заболеваниями гастродуоденальной зоны / С. В. Рычкова, В. А. Александрова. Транскраниальная электростимуляция. Экспериментально-клинические исследования: Сб. статей. – СПб., 2001. – С. 451–453.
12. Самойлова И. Г. Лечение сенсоневральной тугоухости методом транскраниальной электростимуляции / И. Г. Самойлова, Н. И. Краева // Пособие для врачей – СПб. 1998. – 12 с.
13. Транскраниальная электростимуляция в лечении сенсоневральной тугоухости. Прогноз эффективности с помощью фокусированного ультразвука / Н. И. Краева, В. П. Лебедев, В. И. Пудов и др. Транскраниальная электростимуляция. Экспериментально-клинические исследования: Сб. статей. – СПб., 2001. – С. 462–467.
14. Трушин В. Б. Рецидивирующие носовые кровотечения / В. Б. Трушин // Новости оторинолар. и логопатол. – 2002. – №1(29). – С. 93–94.
15. ТЭС-терапия сенсоневральной тугоухости: пути к совершенствованию / В. П. Лебедев, Е. М. Цирульников, В. В. Бойцова и др. // Рос. оторинолар. – 2003. – №3 (6). – С. 97–100.
16. Шпак Л. В. Особенности психовегетативной организации рефлексов положения и типов кровообращения при гипертонической болезни / Л. В. Шпак, Н. О. Белова // Кардиология. – 1996. – №11. – С. 68–69.

УДК: 616. 322–002. 2: 537. 533. 35

## УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИНДАЛИН БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ

Е. В. Ильинская, Г. С. Мальцева

ФГУ «СПб НИИ уха, горла, носа и речи Росмедтехнологий»  
(Директор – засл. врач РФ, проф. Ю. К. Янов)

Хронический тонзиллит – это полиэтиологическое инфекционно-аллергическое заболевание. Из микробных провокаторов наиболее доказанной является этиологическая роль  $\beta$ -гемолитического стрептококка группы А (ГСА) [5, 6, 7]. Известно, что основной локализацией ГСА является слизистая оболочка глотки и небных миндалин. Несмотря на то, что ГСА известен как экстрацеллюлярный патоген, он продуцирует и многочисленные инвазивные факторы, позволяющие проникать в тонзиллярные эпителиальные клетки [13, 15]. А. Osterlund et al. [14] обнаружили, что небные миндалины у детей с рецидивирующим тонзиллитом содержат стрептококки, находящиеся внутри клеток, и предположил, что этот лимфоидный орган может быть резервуаром для рецидивирующих инфекций. Аналогичные данные получили Р. Kasenomm et al. [16]. А. Ebenfelt et al. [12], напротив, отрицает возможность их проникновения в эпителиоциты. Наличие патогенной флоры в более глубоких тканях небных миндалин также считается дискуссионным [13]. Однако в последних исследованиях в тканях миндалин и в просвете их кровеносных сосудов у больных токсико-аллергической формой хронического тонзиллита были выявлены как мертвые, так и живые микробы [8].

По нашим данным, персистенция ГСА в ткани небных миндалин косвенно подтверждается микробиологическим исследованием гноя из паратонзиллярных абсцессов, выявившим ГСА у 38,5% больных, в то время как ангина предшествовала или сопровождала паратонзиллярный абсцесс лишь у единичных больных [4]. Специальное микробиологическое исследование, проведенное нами для выявления внутриклеточной персистенции  $\beta$ -гемолитических стрептококков, позволило заподозрить последнюю у 8,0% больных хроническим тонзиллитом [3].



Таким образом, целый ряд вопросов о характере локализации бактерий в клетках тканей миндалин остается до конца не выясненным. Вместе с тем, это имеет принципиальное значение для клинициста, так как внутриклеточное нахождение бактерий делает их труднодоступными как для диагностики, так и для лечения. В то же время, при неблагоприятных для пациента условиях (переохлаждение, стресс и т. п.) существует опасность размножения и выхода из клеток тканей небных миндалин находящихся там бактерий.

**Целью** исследования явилось обнаружение бактерий и выявление, вызванных ими изменений ультраструктуры клеток, в миндалинах, удаленных при тонзиллэктомии у больных хроническим тонзиллитом.

#### **Материал и методики**

Для электронно-микроскопического исследования служили участки миндалин из области первичных крипт. После иссечения ткани до размеров 1 мм<sup>3</sup>, кусочки погружали в 2,5% глутаральдегид на 0,1М какодилатном буфере и постфиксировали в 1% четырехокиси осмия. Затем, после обезвоживания в этанолах, восходящей концентрации, материал заключали в смесь эпона с аралдитом. Исследованию в электронном микроскопе предшествовало изготовление полутонких срезов, в результате анализа которых под световым микроскопом, были выбраны области, где эпителий, вдаваясь в подлежащую лимфоидную ткань, образует вторичные крипты. Ультратонкие срезы изготавливали на ультратоме LKB-100 и исследовали в электронном микроскопе JEM-100 S.

#### **Результаты исследования**

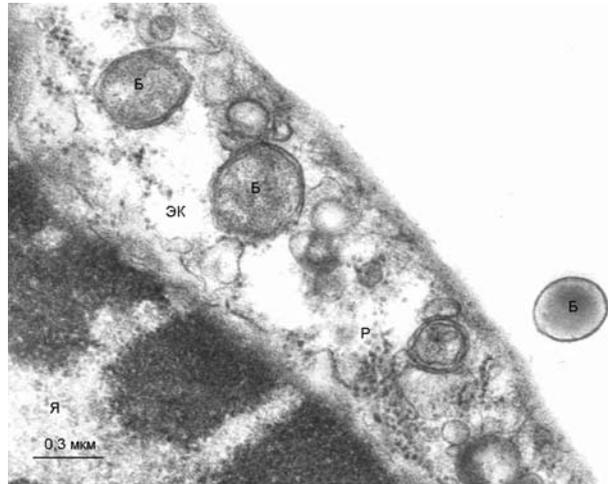
Выстилка вторичных крипт во всех проанализированных образцах была представлена многослойным плоским неороговевающим эпителием с различной степенью сохранности клеток апикального слоя. На участках, где в эпителиальных клетках не было выявлено деструктивных признаков, эпителиоциты располагались в 4–5 рядов, в которых длинная ось клеток была параллельна люминальной поверхности. Из-за чередования клеток с электронно-темной и электронно-светлой цитоплазмой весь эпителиальный пласт имел вид «слоеного пирога». В ряду клеток, прилегающих к базальной мембране и имеющих более округлую форму, чередовались эпителиоциты с цитоплазмой разной электронной плотности. На поверхности клеток, обращенных в полость крипт, видны многочисленные микроворсинки. Остальные поверхности клеток демонстрировали большое количество выростов, контактирующих друг с другом. Нередко места соседства клеток имели области специализированных плотных контактов. Ядра, вытянутые вдоль длинной оси клеток, содержали одно, реже два ядрышка в плоскости среза. Для цитоплазмы, особенно в электронно-светлых клетках, характерно наличие множества мелких вакуолей, небольшого количества цистерн шероховатой и гладкой эндоплазматической сети и Аппарата Гольджи, умеренное количество митохондрий и довольно много свободных рибосом. В просвете крипт часто встречались различные лимфоидные клетки: малые и более дифференцированные лимфоциты, реже – эозинофилы и нейтрофилы, а также эритроциты.

В просвете вторичных крипт нередко обнаруживалось значительное количество клеточного детрита. Многие эпителиальные клетки, выстилающие такие участки, демонстрировали различную степень деструктивных изменений. Как правило, именно в этих областях встречались бактериальные клетки.

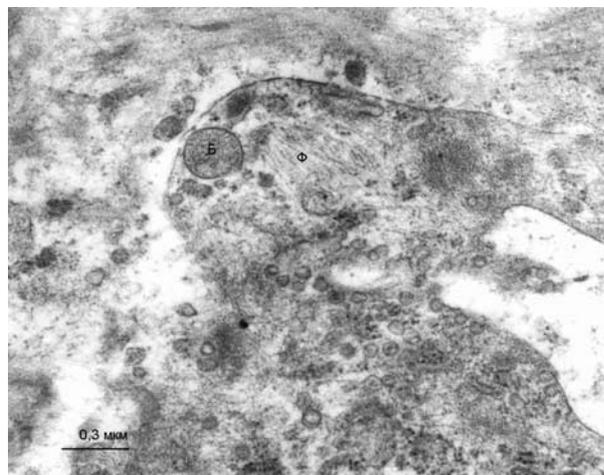
Бактерии округлой или слегка эллипсоидной формы имели отчетливую двойную мембрану (рис. 1, 2), над которой иногда выявлялась микрокапсула (рис. 3). Внутри бактериальные клетки равномерно компактно заполнены мелкозернистым компонентом средней электронной плотности, на некоторых срезах была видна центральная более светлая область, содержащая нуклеоид. В ряде случаев внутри бактерий просматривались немногочисленные мембранные структуры. Были обнаружены делящиеся микробные клетки, о чем свидетельствовали мембраны перегородок деления. Однако расположение перегородок деления было беспорядочным (рис. 4). Бактерий с нормально протекающим делением не встречалось. Кокки присутствовали как внутри эпителиоцитов, так и в просвете крипт (рис. 1, 4). В эпителиоцитах было обнаружено присутствие бактерий в двух видах: свободное нахождение микробов в цитоплазме клеток и изоляция кокков в клеточных вакуолях (рис. 1). Деструктивных признаков такие клет-



ки не имели. В пространстве над эпителиальным слоем отмечены процессы фагоцитоза бактерий макрофагами (рис. 5), а также выявлена изоляция кокков отростками эпителиальных клеток (рис. 3). Реже бактерии встречались под эпителиальной выстилкой в межклеточном пространстве соединительной ткани (рис. 6), а также внутриклеточно в фибробластах (рис. 2). Нередко в цитоплазме клеток около бактерий выявлялось скопление микрофибрилл. Здесь же в собственной пластинке выявлены картины фагоцитоза бактерий лимфоцитами.



**Рис. 1.** Электроннограмма эпителиальной клетки.  
В цитоплазме эпителиоцита и у его поверхности видны бактерии.



**Рис. 2.** Электроннограмма участка цитоплазмы фибробласта из соединительнотканной области миндалина.  
Около бактериальной клетки видно скопление микрофиламентов.

### Обсуждение полученных результатов

В последнее время возобновился интерес к исследованию миндалин с привлечением электронно-микроскопических методик [9, 16]. Результаты, полученные нами, существенно дополняют сведения, содержащиеся в работах других авторов. Следует отметить, что, несмотря на длительность хронического заболевания, в исследованных нами миндалинах не было обнаружено существенных некротических зон ни на уровне эпителиального пласта, ни в соединительно-тканной области. Наличие клеточного детрита в просвете крипт и единичных разрушающихся эпителиоцитов в пределах эпителиального слоя не сопровождалось уменьшением количества его рядов. Тем не менее, у пациентов с аналогичным диагнозом отмечена атрофия эпителия и глубокие некротические изменения [9]. По-видимому, наблюдаемые различия в



степени поражения ткани миндалин в выше приведенной работе и в нашем исследовании, могут быть связаны с индивидуальными особенностями течения заболевания и (или) с уровнем его ремиссии перед тонзиллэктомией. О функциональной состоятельности исследованной ткани миндалин, кроме удовлетворительной сохранности большинства эпителиальных клеток, свидетельствует наличие эпителиоцитов, фагоцитирующих бактериальные клетки. Возможно, что эти эпителиоциты, образующие отростки, являются именно М-клетками, присутствие которых в эпителии миндалин описано в ряде работ [2, 10]. Помимо эпителиоцитов обнаружен фагоцитоз бактерий лимфоидными клетками. Аналогичные процессы фагоцитоза *Streptococcus pyogenes* макрофаго – подобными клетками отмечены в миндалинах у 8 из 14 пациентов [14].

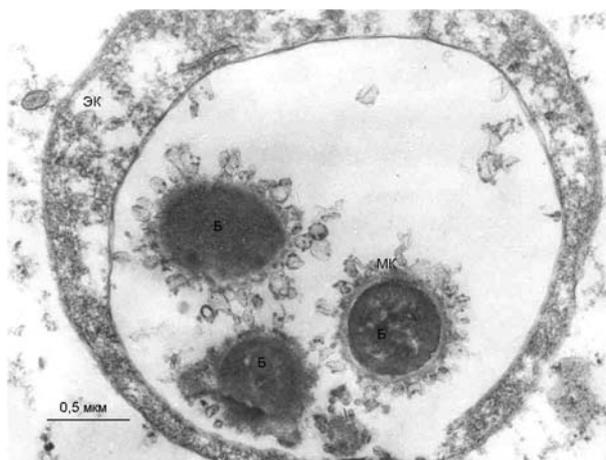


Рис. 3. Электроннограмма бактерий, окруженных отростками эпителиальной клетки.

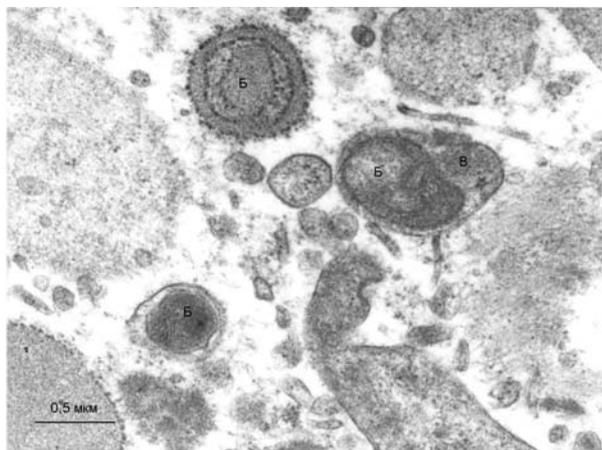


Рис. 4. Электроннограмма бактерий, находящихся в просвете крипты. У двух бактериальных клеток видны беспорядочно расположенные перегородки деления.

Что касается обнаруженных в исследуемых тканях миндалин бактериальных клеток, то на основе анализа их ультраструктуры, можно говорить о наличии двух типов кокков. С одной стороны, выявлены бактериальные клетки с отчетливой двойной цитоплазматической мембраной, что является характерной чертой стрептококков и, с другой стороны, бактерии с одноконтурной цитоплазматической мембраной, отличающей стафилококки. Морфологическая идентификация микроорганизмов проводилась по «Атласу анатомии бактерий» [1].

Неотъемлемой чертой кокков является микрокапсула, располагающаяся снаружи от цитоплазматической мембраны, однако ее выраженность, своеобразная «пушистость», у обнару-



женных бактерий была различной. Разная степень отчетливости микрокапсулы может быть связана с местонахождением бактерий. Известно, что основная роль микрокапсулы проявляется в процессе адгезии бактерии на поверхности клетки-хозяина, поскольку большинство микробов было обнаружено внутри клеток миндалин, с этим можно связать слабую выраженность микрокапсулы. Кроме того, считают, что величина микрокапсулы зависит от типа группы (M+ или M-), к которой принадлежит стрептококк [11].

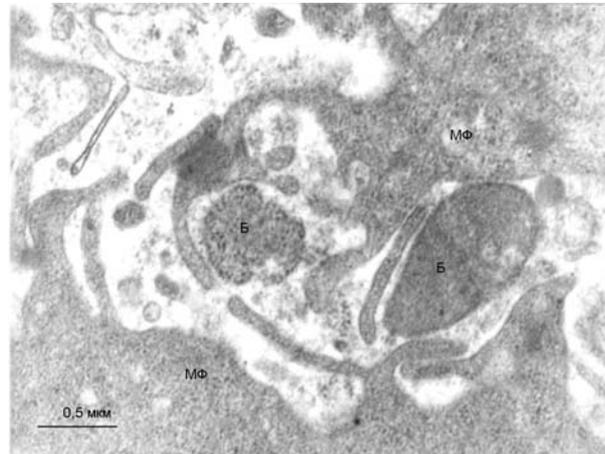


Рис. 5. Электроннограмма макрофага, фагоцитирующего бактерии, находящиеся в просвете крипты.

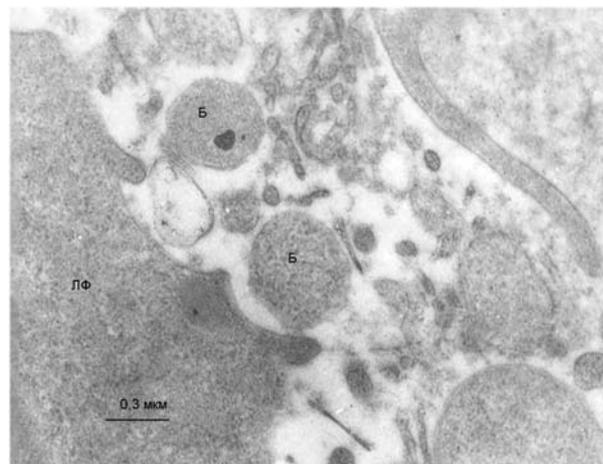


Рис. 6. Электроннограмма лимфоцита, фагоцитирующего бактериальную клетку.

**Условные обозначения:** Б – бактериальная клетка; В – вакуоль; Лф – лимфоцит; М – митохондрии; Мк – микрокапсула; Мф – макрофаг; Ф – микрофиламенты; Эк – эпителиальная клетка; Я – ядро.

Следует отметить, что в исследованных тканях не обнаружено большого количества делящихся микробов, а клетки, выявленные в стадии деления, имели беспорядочно направленные перетяжки, что, как известно, характерно для бактерий после антибактериальной терапии. Это подтверждается клиническими данными: в анамнезе у обследованных нами больных были частые ангины, по поводу которых они получали повторные курсы антибактериальной терапии.

При электронно-микроскопическом исследовании было обнаружено двойное расположение бактерий вне клеток миндалин: в просвете вторичных крипт и в глубине миндалин в межклеточном пространстве соединительно-тканной части. Кроме того, внутриклеточное присутствие кокков также было двойным: бактерии находили заключенными в вакуоли и свободно располагающимися в цитоплазме как эпителиоцитов, так и фибробластов. Иногда поблизости от бактерий в цитоплазме фибробластов находились скопления тонофиламентов. Считается,



что такое соседство отражает процесс активного взаимодействия клетки-хозяина и микроба. В ряде исследований, проведенных на небных миндалинах [16], а также на культуре эпителиальных клеток карциномы легкого человека [13], отмечены картины соседства кокков и скопленных микрофиламентов в эпителиальных клетках. Нами в цитоплазме эпителиоцитов не обнаружено концентрации филаментов около внутриклеточно расположенных бактерий.

**Выводы:**

*При электронно-микроскопическом исследовании ткани небных миндалин, удаленных в ходе тонзиллэктомии, было выявлено внеклеточное и внутриклеточное присутствие бактерий. Наличие кокков непосредственно в цитоплазме эпителиальных и соединительнотканых клеток является отражением возможности персистенции бактерий в ткани небных миндалин. При такой локализации стрептококки, ответственные за наиболее опасные осложнения хронического тонзиллита, недоступны как для диагностики микробиологическими методами, так и для большинства антибактериальных препаратов.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян А. А. Атлас анатомии бактерий, патогенных для человека и животных / А. А. Авакян, Л. Н. Кац, И. Б. Павлова. – М.: Медицина, 1972. – 181 с.
2. Быкова В. П. Морфофункциональная организация небных миндалин как лимфоэпителиального органа / В. П. Быкова // Вестн. оторинолар. – 1998. – №1. – С. 41–45.
3. Мальцева Г. С. β-гемолитические стрептококки в этиологии хронического тонзиллита / Г. С. Мальцева, Л. А. Бурова // Рос. оторинолар. – 2008. – Приложение №3. – С. 65–69
4. Мальцева Г. С. Особенности клинического течения хронического тонзиллита в современных условиях / Г. С. Мальцева, Х. Диаб. Мат. науч.-практ. конф. «Современные технологии в оториноларингологии», посвященной 115-летию создания первой кафедры отоларингологии в России. – СПб: ВМедА, 2008. – С. 72–74.
5. Место антибактериальной терапии в попытке стандартизации лечения больных хроническим тонзиллитом и коморбидной миокардиопатией / А. Ю. Овчинников, А. Л. Сыркин, В. А. Габедава, и др. // Рос. оторинолар. Приложение. – 2007. – С. 497–502.
6. Микробный пейзаж и пути рациональной антибиотикотерапии при острых гнойных заболеваниях ЛОР-органов / В. Т. Пальчун, Н. Л. Кунельская, М. Е. Артемьев, и др. // Вестн. оторинолар. – 2004. – №5. – С. 4–8.
7. Особенности ангины стрептококковой этиологии в условиях промышленного центра / М. А. Бала, С. В. Корабельников, Е. А. Таранцева, и др. // Врачебное дело. – 1991. – №3. – С. 90–91.
8. Пальчун В. Т. Наблюдения и опыт по диагностике и лечению некоторых оториноларингологических больных / В. Т. Пальчун // Вестн. оторинолар. – 2006. – №5. – С. 18–22.
9. Пальчун В. Т. Развитие проблемы хронического тонзиллита / В. Т. Пальчун // Там же. – 2006. – №6. – С. 7–8.
10. Хронический тонзиллит. Клиника и иммунологические аспекты / М. С. Плужников, Г. В. Лавренова, М. Я. Левин, и др. – СПб.: Диалог, 2005. – 222 с.
11. Adherence of group A streptococci to epithelial cells in tissue culture / K. B. Grabovskaya, A. A. Totoljan, M. Ryc, et al. // Zbl. Bakt. Hyg. J. Abt. Orig. – 1980. – A. 247. – P. 303–314.
12. Ebenfelt A. Acute pharyngotonsillitis in an infection restricted to the crypt and surface secretion / A. Ebenfelt, L. E. Ericson, C. Lundberg // Acta Otolaryngol. (Stockh.). – 1998. – Vol. 118. – №2. – P. 264–271.
13. Group A streptococci efficiently invade human respiratory epithelial cells / D. LaPenta, C. Rubens, E. Chi, et al. // Microbiology – 1994. – Vol. 91. – P. 12115–12119.
14. Intracellular reservoir of Streptococcus pyogenes in vivo: a possible explanation for recurrent pharyngotonsillitis / A. Osterlund, R. Popa, T. Nikkila, et al. // Laryngoscope. – 1997. – Vol. 107. – №5. – P. 640–647.
15. Lilja M. Initial events in the pathogenesis of acute tonsillitis caused by Streptococcus pyogenes / M. Lilja, S. Raisanen, L. E. Stenfors // Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. – 1998. – Vol. 45. – №5. – P. 15–20.
16. Selection of indicators for tonsillectomy in adults with recurrent tonsillitis / P. Kasenomm, A. Piirsoo, M. Kull, et al. // BMC Ear Nose Throat Disord. – 2005, 5. 7. Published online 2005. – September 13. Doi: 10.1186/1472 – 6815–5–7.