

УДК: 616.22-018.73-002.1

М.А. Ковалев¹, Е.В. Давыдов², Л.В. Астахова³

ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ТКАНЯХ ЭКССУДАТИВНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПРОСТРАНСТВА РЕЙНКЕ

¹ Филиал №3 ФГБУ «З Центральный Военный Клинический Госпиталь им. А.А. Вишневого»
Минобороны РФ, г. Одинцово, Московская обл., Российская Федерация;

² ГБУЗ Челябинская областная клиническая больница,
г. Челябинск, Российская Федерация;

³ ГБУЗ Многопрофильный центр лазерной медицины,
г. Челябинск, Российская Федерация

Резюме. Отек Рейнке, полипы и узелки голосовых складок, относятся к экссудативным поражениям пространства Рейнке (ЭППР), имеют общие черты патогенеза, схожи по этиологии, морфогенезу и клиническим проявлениям, но имеют характерную топографию расположения на голосовых складках. В поддержании тканевого и иммунного гомеостаза принимают участие клеточные элементы как собственной пластинки, субэпителиальной зоны, так и соединительной ткани. Исследование морфометрических особенностей ЭППР у представителей вокальных профессий явилось целью работы. Микроскопические исследования в 47 образцах тканей проводили на микроскопе «DMRXA» («Leika», Германия), с помощью программы «Image Scope M» (Германия). Статистическая обработка материала проводилась с помощью пакета программ «Statistica 10.0 for Windows». Полученные нами данные показали ряд особенностей клеточного состава и стромального компонента при различных ЭППР. Ткани ангиоматозных полипов и голосовых узелков содержали большое количество фибробластов и имели высокую удельную площадь сосудистой сети. В образцах тканей миксоидных полипов и при отеке Рейнке показано значимое повышение количества лимфоцитов, гистиоцитов, высоты эпителиального пласта и удельной площади жидкостного компонента соединительной ткани. На отсутствие воспалительного процесса указывало минимальное содержание в тканях всех ЭППР нейтрофилов и макрофагов.

Ключевые слова: экссудативные поражения пространства Рейнке, морфометрия

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Давыдова Евгения Валерьевна

davidova-ev.med@yandex.ru

Дата поступления 28.07.2022 г.

Образец цитирования:

Ковалев М.А., Давыдова Е. В., Астахова Л.В. Характеристика морфометрических показателей в тканях экссудативных поражений пространства Рейнке. Вестник уральской медицинской академической науки. 2022, Том 19, №3, с. 333–338, DOI: 10.22138/2500-0918-2022-19-3-333-338

Введение

Среди причин стойкого нарушения фонации, особенно у представителей вокальных и речевых профессий, до 70% занимают доброкачественные новообразования голосовых складок, в частности, экссудативные поражения пространства Рейнке (ЭППР). К ним относят отек Рейнке (полиповидная дегенерация голосовых складок), полипы и узелки голосовых складок, схожие по этиологии, морфогенезу и клиническим проявлениям и различающиеся преимущественным анатомическим расположением на поверхности голосовых складок [1].

ЭППР присуща морфофункциональная общность изменений, касающаяся прежде всего повышения проницаемости сосудистой стенки и скопления отечной жидкости в рыхлой соединительной ткани пространства Рейнке, при недостаточной возможности ее отведения. Эндоскопическая картина может быть крайне вариабельной от легкой веретенообразно-стекловидной опухоли, которая выглядят как «брюшко», до тяжелого флотирующего утолщения, вызывающего удушье [1, 2].

Микроскопическая картина поражений зависит и от стадии развития, так, на ранних стадиях формирования полипов голосовых складок более выражен стромальный отек и явления пролиферации фибробластов, через эпителий в ряде случаев просвечивает прозрачная жидкость. По мере прогрессирования заболевания образования становятся бугристыми и мутноватыми, но не теряют студенистости [1, 3].

Помимо стромального компонента в структуре голосовых складок имеется представительство мукозо-ассоциированной лимфоидной ткани гортани, имеющее важнейшее значение для поддержания тканевого и иммунного гомеостаза региона. Эффекторная зона МАЛТ голосовых складок представлена в собственной пластинке и эпителием слизистой оболочки. В эффекторной зоне типично диффузное распределение элементов системы в виде отдельных клеток на базальной мембране эпителия, между эпителиоцитами и в пределах собственной пластинки (*lamina propria*), расположенной непосредственно под слоем эпителиоцитов слизистой оболочки. На *lamina propria* рассредоточены Т-лимфоциты, NK-клетки, В1-лимфоциты, образующие низкоаффинные антитела, В-клетки, макрофаги, гистиоциты, плазмоциты и дендритные клетки, обеспечивающие распознавание антигенов, киллинговую и элиминационную функции МАЛТ [4].

В связи с вышеизложенным, целью исследования явилось изучение морфометрических показателей в тканях эксудативных поражений пространства Рейнке.

Материалы и методы

Исследование проводилось на образцах тканей ЭППР, отобранных интраоперационно при оперативной полипэктомии у 47 пациентов голосо-речевых профессий с диагнозом по МКБ-10 J38.1 Полип голосовой складки и гортани. Основными жалобами пациентов являлась дисфония, осиплость голоса и невозможность выполнения профессиональных функций. Удаление полипно-измененных тканей голосовых складок осуществлялось с помощью фибробронхоскопа Olympus TYPE150 (Германия) под эндотрахеальным наркозом под контролем операционного микроскопа Haag-Streit Surgical Möller Wedel MV-500 (Германия) с применением интегрированного CO₂ лазера Lumenis Acu Pulse (Израиль) по методу Hirano [5]. Первую группу составили 12 образцов тканей с ангиоматозным типом полипов, вторую группу — 10 полипов миксоидного типа, третью группу — 11 образцов тканей узелков голосовых складок, четвертую группу — ткани с диффузным отеком Рейнке (n=14).

Материал для морфометрических исследований фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина, обезжировали, обезжирировали и заливали в парафин. Готовили гистологические срезы толщиной 5–7 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином («Biovitrum», Россия). Микроскопические исследования проводили на микроскопе «DMRXA» («Leika», Германия). Анализ показателей производился с помощью компьютерной программы «Image Scope M» (Германия), совмещенной с микроскопом, при увеличении $\times 100$ и $\times 400$. Определяли следующие морфометрические показатели в расчете на мм²: количество фибробластов, нейтрофилов, гистиоцитов, плазмоцитов, лимфоцитов, сосудистый и жидкостный компоненты стромы.

Статистическая обработка материала проводилась с помощью пакета программ «Statistica 10.0 for Windows». Значения показателей представлены в виде Me (Q25;Q75), где Me — медиана, Q25 и Q75 — интерквартильный интервал. Сравнение групп производили, используя непараметрический критерий Манна–Уитни, с учетом поправки Бонферрони, значимыми считали различия при $p \leq 0,02$.

Результаты и обсуждение

На ранних стадиях формирования ЭППР для всех форм характерными особенностями являются наличие стромального отека, расширение и истончение сосудов микрокапиллярного типа с расстройством кровообращения в виде явлений стаза, тромбоза, плазморрагий, явлениями пролиферации фибробластов. На более поздних стадиях наблюдается выраженная клеточная инфильтрация,

гиалиноз стромы, отложения гемосидерина, фибронектина, утолщение суббазальной мембраны и собственной пластинки.

Изучение морфометрических параметров в тканях ЭППР показало некоторые особенности клеточного состава новообразований (таблица 1). Клеточный состав тканей изучали преимущественно в субэпителиальной зоне опухолеподобных новообразований голосовых складок, включающей элементы мукозо-ассоциированной ткани региона гортани. Установлено, что количество нейтрофилов в тканях всех изучаемых ЭППР оказалось самым малочисленным и не имело значимых различий между группами. По-видимому, это связано с отсутствием классических воспалительных изменений в тканях, что подтверждается и данными эндоларингоскопии. Подобное низкое представительство в тканях ЭППР касалось и содержания макрофагов, количество которых не имело различий среди изучаемых групп.

Согласно данным литературы в составе МАЛТ гортани конститутивно присутствуют клеточные элементы моноцитарно-макрофагального ряда, что связано с обеспечением иммунного гомеостаза данной зоны [6].

В тканях «плотных» новообразований, к которым относятся ангиоматозный тип полипов и узелки голосовых складок, отмечено повышение количества фибробластов в сравнении с тканями «мягких» новообразований, к которым относятся миксоидный тип полипов и отек Рейнке. Фибробласты являются основными клеточными элементами стромы органа, одной из функций которых является поддержание тканевого гомеостаза. В условиях хронического перенапряжения голосовых складок или воздействия токсичных раздражителей фибробласты наряду с макрофагами способны менять фенотип на воспалительный и секретировать воспалительные белки, хемокины и факторы роста. Кроме того, фибробласты принимают активное участие в процессах репарации, восстанавливая структуру внеклеточного матрикса и ремоделирования ткани в зонах продолжительных ишемически-гипоксических изменений, например, при сдавлении отечной жидкостью.

Напротив, в тканях «мягких» новообразований зафиксировано наибольшее представительство лимфоцитов и гистиоцитов, значимо различаясь с группами «плотных» ЭППР. Гистиоциты, располагаясь преимущественно в соединительнотканной зоне, поддерживают наряду с фибробластами тканевую гомеостаз, посредством возможности трансформации в типичные макрофаги при определенных условиях, например, при хронической механической травме, микробной инвазии. За счет высокой активности лизосомальных ферментов гистиоциты проявляют цитолитические свойства в отношении патогенов. В этих же группах нами зафиксирована максимальная высота эпителиального пласта. Кроме того, известно, что в слизистой оболочке гортани имеет место обилие и других иммунологически активных клеток, в частности, идентифицированы, CD4⁺ и CD8⁺ клетки с экспрессией антигенов МНС класса II клетки, макрофаги, дендритные клетки, В- лимфоциты и NK клетки, а также гранулоциты и эозинофилы [6, 7, 8].

Современные иммуногистохимические исследования, проведенные на биоптатах, показывают, что слизистая оболочка голосовых складок у пациентов при всех формах ранних проявлений ЭППР имеет повышенную субэпителиальную васкуляризацию с большим количеством расширенных с истонченными стенками капилляров. Отмечается повышенная ломкость капилляров и изменение сосудистого рисунка в пространстве Рейнке. Повышенная проницаемость является причиной отека тканей этой области, что способствует прогрессированию заболевания и появлению кровоизлияний в голосовые складки при повышении голосовых нагрузок. Исследование нами удельной площади сосудистой сети в соединительной ткани ЭППР показало ее превалирование в «плотных» новообразованиях. Напротив, в соединительной ткани «мягких» полипов и отеке Рейнке обнаружено преобладание отечного компонента, основу которого составляет белковый транссудат, вследствие повышения проницаемости сосудистой стенки и затруднении оттока лимфы, что соотносится с исследованиями других авторов [3]. Компоненты соединительнотканной стромы образуют тонко-петлистую сеть, пространства которой заполнены отечной жидкостью.

Таким образом, морфометрические исследования образцов тканей различных ЭППР показали некоторые особенности клеточного состава и стромальной структуры новообразований. Ткани «плотных» образований содержат большое количество фибробластов и имеют высокую удельную площадь сосудистой сети, напротив, в тканях «мягких» полипов превалируют лимфоциты, гистиоциты, высота эпителиального пласта и жидкостной компонент в соединительной ткани. В то же

время, количество нейтрофилов и макрофагов во всех представленных образцах ЭППР было малочисленным и не имело различий между группами, что отражает невоспалительный генез данной патологии.

Таблица 1
Морфометрические показатели в тканях экссудативных поражений пространства Рейнке

Показатель	ЭППР			
	Полипы голосовых складок		Группа 3 Узелки голосовых складок (n=11)	Группа 4 Отек Рейнке (n=14)
	Группа 1 Ангиоматозный тип (n=12)	Группа 2 Миксоидный тип (n=10)		
Субэпителиальная зона				
Нейтрофилы, ед/ мм ²	12,1 (9,4;14,2)	7,6 (6,2;10,8)	11,2 (8,4;13,4)	8,4 (6,3;10,9)
	-			
Лимфоциты, ед/мм ²	28,4 (24,1; 30,7)	57,6 (54,2;60,3)	37,6 (32,4;39,8)	62,4 (58,2;65,4)
	0,002 1-2 0,003 1-4 0,01 2-3			
Гистиоциты, ед/мм ²	25,2 (16,3;28,9)	46,3 (35,4;54,8)	27,8 (24,8;32,7)	54,8 (48,6;63,7)
	0,04 1-2 0,03 1-4 0,002 2-3			
Макрофаги, ед/мм ²	22,7 (16,3;27,3)	11,4 (10,6;18,4)	18,2 (16,4;21,3)	19,1 (15,7;26,6)
	-			
Фибробласты, ед/ мм ²	64,8 (58,1;70,1)	23,7 (21,2;36,2)	53,4 (47,4;56,9)	27,8 (25,2;39,7)
	0,003 1-2 0,02 2-3 0,01 3-4 0,004 1-4			
Высота эпителиального пласта, мкм	114,6 (103,3;121,4)	247,8 (232,1;251,4)	89,1 (78,1;96,4)	198,9 (182,3;204,6)
	0,02 1-2 0,001 2-3 0,002 3-4 0,04 1-4			
Соединительная ткань				
Удельная площадь сосудистой сети, у.е.	0,34 (0,32;0,37)	0,09 (0,04;0,11)	0,27 (0,25;0,30)	0,10 (0,08;0,12)
	0,001 1-2 0,01 2-3 0,02 3-4 0,004 1-4			
Удельная площадь жидкостного компонента ткани, у.е.	0,07 (0,05;0,09)	0,32 (0,26;0,38)	0,10 (0,08;0,12)	0,29 (0,25;0,32)
	0,03 1-2 0,001 2-3 0,001 3-4 0,03 1-4			

ЛИТЕРАТУРА

1. Дайхес Н.А., Быкова В.П., Пономарев А.Б., Давудов Х.Ш. Клиническая патология гортани. Руководство-атлас. М.: Медицинское информационное агентство. 2009. 160 с.
2. Vasconcelos D., Gomes A., Araújo C. Vocal Fold Polyps: Literature Review. Int Arch Otorhinolaryngol. 2019. Vol.23, no.1. pp. 116- 124.
3. Быкова В.П., Кочесокова Э.А., Иванченко Г.Ф., Ротова И.Д. Морфология полипов и слизистой оболочки голосовых складок при болезни Рейнке. Архив патологии. 2015. №.77 (1). С. 30-37. DOI:10.17116/patol201577130-
4. Осиков М.В., Давыдова Е.В., Ковалёв М.А. Особенности состояния мукозо-ассоциированной ткани гортани при хроническом отечно-полипозном ларингите. Современные проблемы науки и образования. 2020. № 3. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29693>
5. Мустафаев Д. М., Ашуров З. М., Зенгер В. Г., Осипенко Е. В., Массарыгин В. В., Копченко О. О. Эндоларингеальная микрохирургия доброкачественных новообразований гортани и объективная оценка их функциональных результатов. Анналы пластич., реконструктивной и эстетич. хирургии. 2008. № 2. С. 16–22.
6. Barker E., Haverson K., Stokes C.R., Birchall M, Bailey M. The larynx as an immunological organ: immunological architecture in the pig as a large animal model. Clin Exp Immunol. 2006. Vol.143 (1). pp.6-14. doi: 10.1111/j.1365-2249.2005.02950.x.
7. Rees L.E., Ayoub O., Birchall M.A., Haverson K., Bailey M. Quantitative immunofluorescence to

mesure MHC Class II expression on laryngeal epithelium. Clinical and experimental immunology. 2003. no.134. pp. 497–502.

8. Rees L.E., Gunasekaran S., Sipaul F., Birchall M.A., Bailey M. The isolation and characterisation of primary human laryngeal epithelial cells. Molecular Immunology. 2006. No.43. pp. 725–730

Авторы

Ковалев Михаил Александрович

Филиал №3 ФГБУ «3 Центральный Военный Клинический Госпиталь им. А.А. Вишневого»
Минобороны РФ

Заведующий отделением оториноларингологии

Российская Федерация, 143000, Московская обл., г. Одинцово, ул. Маршала Бирюзова, д.1
lor.kovalev@mail.ru

Давыдова Евгения Валерьевна

ГБУЗ Челябинская областная клиническая больница

Доктор медицинских наук, заведующий отделением медицинской реабилитации

Российская Федерация, 454048, г. Челябинск, ул. Воровского, 70
davidova-ev.med@yandex.ru

Астахова Людмила Витальевна

ГБУЗ Многопрофильный центр лазерной медицины

Кандидат медицинских наук, руководитель отдела поисковых исследований

Российская Федерация, 454138, г. Челябинск, проспект Победы, 287

M.A. Kovalev¹, E.V. Davydova², L.V. Astakhova³

CHARACTERISTICS OF MORPHOMETRIC PARAMETERS IN TISSUES OF EXUDATIVE LESIONS OF REINKE'S SPACE

¹ Branch No. 3 FGBU «3 Central Military Clinical Hospital named after. A.A. Vishnevsky»
of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Odintsovo, Russian Federation;

² Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation;

³ Multidisciplinary Center for Laser Medicine, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Reinke's edema, polyps and nodules of the vocal folds, belong to the exudative lesions of the Reinke's space (EPPR), have common features of pathogenesis, are similar in etiology, morphogenesis and clinical manifestations, but have a characteristic topography of the location on the vocal folds. Cellular elements of both the lamina propria, the subepithelial zone, and the connective tissue take part in maintaining tissue and immune homeostasis. The study of the morphometric features of EPPR in representatives of vocal professions was the aim of the work. Microscopic studies in 47 tissue samples were performed on a DMRXA microscope (Leika, Germany) using the Image Scope M program (Germany). Statistical processing of the material was carried out using the Statistica 10.0 for Windows software package. Our data showed a number of features of the cellular composition and stromal component in various EPPRs. The tissues of angiomatous polyps and vocal nodules contained a large number of fibroblasts and had a high specific area of the vasculature. In tissue samples of myxoid polyps and with Reinke's edema, a significant increase in the number of lymphocytes, histiocytes, the height of the epithelial layer and the specific area of the fluid component of the connective tissue was shown. The absence of an inflammatory process was indicated by the minimum content of all ESPR of neutrophils and macrophages in the tissues.

Keywords: exudative lesions of Reinke's space, morphometry

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Evgeniya V. Davydova

davidova-ev.med@yandex.ru

Received 28.07.2022

For citation:

Kovalev M.A., Davydova E.V., Astakhova L.V. Characteristics of morphometric parameters in tissues of exudative lesions of Reinke's space. *Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science*. 2022, Vol. 19, no. 3, pp. 333–338. DOI: 10.22138/2500-0918-2022-19-3-333-338 (In Russ)

REFERENCES

1. Daihes N.A., Bykova V.P., Ponomarev A.B., Davudov Kh.Sh. Clinical pathology of the larynx. Atlas guide. Moscow: Medical Information Agency, 2009. 160 p. (In Russ)
2. Vasconcelos D., Gomes A., Araújo C. Vocal Fold Polyps: Literature Review. *Int Arch Otorhinolaryngol*. 2019. Vol.23, no.1. pp. 116- 124.
3. Bykova V.P., Kochesokova E.A., Ivanchenko G.F., Rotova I.D. Morphology of polyps and mucous membranes of the vocal folds in Reinke's disease. *Archives of Pathology*. 2015. no. 77 (1). pp. 30-37 DOI:10.17116/patol201577130- (In Russ)
4. Osikov M.V., Davydova E.V., Kovalev M.A. Features of the state of mucosal-associated tissue of the larynx in chronic edematous-polypous laryngitis. *Modern problems of science and education*. 2020. No. 3.; URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29693> (In Russ)
5. Mustafaev D. M. Ashurov Z. M., Zenger V. G. Osipenko E. V. Massarygin V. V. Kopchenko O. O. Endolaryngeal microsurgery of benign laryngeal neoplasms and objective assessment of their functional results. *Annals of Plastic, Reconstructive and Aesthetic. Surgery*. 2008, no. 2. pp. 16 - 22 (In Russ)
6. Barker E., Haverson K., Stokes C.R., Birchall M, Bailey M. The larynx as an immunological organ: immunological architecture in the pig as a large animal model. *Clin Exp Immunol*. 2006. Vol.143 (1). pp.6-14. doi: 10.1111/j.1365-2249.2005.02950.x.
7. Rees L.E., Ayoub O., Birchall M.A., Haverson K., Bailey M. Quantitative immunofluorescence to measure MHC Class II expression on laryngeal epithelium. *Clinical and experimental immunology*. 2003. no.134. pp. 497–502.
8. Rees L.E., Gunasekaran S., Sipaul F., Birchall M.A., Bailey M. The isolation and characterisation of primary human laryngeal epithelial cells. *Molecular Immunology*. 2006. No.43. pp. 725–730

Authors

Mikhail A. Kovalev

Branch No. 3, Federal State Budgetary Institution "3, Central Military Clinical Hospital named after V.I. A.A. Vishnevsky» of the Ministry of Defense of the Russian Federation

Head of the Department of Otorhinolaryngology

1 Marshal Biryuzova st. Moscow region Odintsovo Russian Federation 143000

lor.kovalev@mail.ru

Evgeniya V. Davydova

Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Russia

MD, Head of the Rehabilitation Department

70 Vorovskogo st. Chelyabinsk Russian Federation 454048

davidova-ev.med@yandex.ru

Lyudmila V. Astakhova

GBUZ Multidisciplinary Center for Laser Medicine

Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Exploratory Research

287 Pobedy av. Chelyabinsk, Russian Federation, 454138