

Ocena występowania nabłonka węchowego o nietypowej lokalizacji w obrębie jamy nosowej

The unusual distribution of olfactory epithelium in the nasal cavity

ANDRZEJ SIEŚKIEWICZ ^{1/}, LECH ZIMNOCH ^{2/}, MAREK ROGOWSKI ^{1/}, MAŁGORZATA RÓŻAŃSKA-KUDELSKA ^{1/}, IZABELA WALENCZAK ^{1/}

^{1/} Klinika Otolaryngologii AM w Białymstoku, ul. M. Skłodowskiej-Curie 24 a, 15-276 Białystok

^{2/} Zakład Patomorfologii Klinicznej AM w Białymstoku, ul. M. Skłodowskiej-Curie 24 a, 15-276 Białystok

Wprowadzenie. Rozmieszczenie nabłonka węchowego u ludzi nie jest dokładnie poznane. Powszechnie uważa się, że komórki węchowe zlokalizowane są w stropie przewodów nosowych, w górnej części przegrody nosa w okolicy blaszki perforowanej i na przyśrodkowej powierzchni małżowiny nosowej górnej. Ostatnie doniesienia literaturowe wskazują na możliwość występowania receptorów węchowych o nietypowej lokalizacji, zlokalizowanych do góry i do dołu od przedniego przyczepu małżowiny nosowej środkowej.

Cel. Celem pracy było potwierdzenie występowania komórek węchowych na bocznej ścianie nosa o nietypowej lokalizacji w obrębie jamy nosowej, ku przodowi i górze od przedniego przyczepu małżowiny nosowej środkowej.

Materiał i metody. Badania wykonano *postmortem*. Fragment błony śluzowej o wymiarach 1 cm x 1 cm pobrano z 30 zwłok ludzkich, nie później niż w ciągu 15 godzin od momentu zgonu, w ten sposób, by tylna linia cięcia przechodziła tuż przed przednim przyczepem małżowiny nosowej środkowej. Komórki węchowe lokalizowano metodą immunohistochemiczną wykorzystując przeciwciała przeciwko OMP (*Olfactory Marker Protein*).

Wyniki. Występowanie komórek węchowych i włókienek nerwu węchowego na bocznej ścianie nosa stwierdzono u 4 (13,3%) pacjentów.

Wnioski. Niewielka liczba badanych, u których uzyskano pozytywną reakcję z przeciwciałem anti-OMP świadczy o znacznym rozproszeniu i rzadkim występowaniu komórek węchowych w badanym obszarze. Stwierdzenie komórek węchowych w przednio-górnej części bocznej ściany nosa może sugerować, że okolica ta ma pewne znaczenie w odczuwaniu zapachów, przynajmniej u niektórych pacjentów, i powinna być oszczędnie traktowana w czasie zabiegów operacyjnych.

Otolaryngologia, 2004, 3(4), 155-158

Słowa kluczowe: komórki węchowe, OMP (*Olfactory Marker Protein*)

Rozmieszczenie nabłonka węchowego u ludzi nie jest dokładnie poznane. Powszechnie uważa się, że komórki węchowe zlokalizowane są w stropie przewodów nosowych, w górnej części przegrody nosa w okolicy blaszki perforowanej i na przyśrodkowej powierzchni małżowiny nosowej górnej [1]. Przednią granicę obszaru węchowego lokalizuje się ok. 1-2 cm do tyłu od przedniego przyczepu małżowiny nosowej środkowej [2]. Liczne badania mikroskopowe błony śluzowej nosa wykazują, że całko-

Introduction. The distribution of the olfactory receptors in the nasal cavity is not fully understood. It is believed that the olfactory cells are located in the lamina cribrosa region, upper part of the nasal septum and opposite medial surface of superior turbinate. Some authors have recently suggested a more anterior distribution of the olfactory cells on the lateral and medial nasal wall.

Aim. The aim of the study was to confirm a non-typical olfactory receptor distribution on the lateral wall, to the front and upwards of the front insertion of middle nasal turbinate.

Material and method. Nasal mucosa (1 cm x 1 cm) was resected during autopsy of 30 subjects, not longer than 15 hours postmortem. The rear border of the incision was located close to the front of anterior insertion of the middle turbinate. For immunohistochemistry, the antibody against olfactory marker protein was used.

Results. Olfactory cells and olfactory nerve fibres were identified in 4 (13.3%) patients of the study group.

Conclusions. The small number of patients with positive anti-OMP reaction indicates scarce distribution of olfactory receptors in the studied region. Nevertheless, identification of olfactory epithelium and nerve fibres in the upper and front part of lateral nasal wall suggests that this region may play a role in olfaction of some patients and should be handled with care during surgical procedures.

Otolaryngologia, 2004, 3(4), 155-158

Key words: olfactory cells, OMP (*Olfactory Marker Protein*)

wita powierzchnia nabłonka węchowego waha się w granicach 1-2 cm² [3]. U płodu nabłonek węchowy ciągnie się nieprzerwanie od blaszki perforowanej ku dołowi, a przechodząc na małżowinę nosową górną i przegrodę nosa dochodzi do połowy jej wysokości [4]. Występowanie nabłonka węchowego u osób dorosłych charakteryzuje się znaczną zmiennością. W odróżnieniu od płodu, nabłonek węchowy dorosłych występuje w postaci wysp oddzielonych od siebie nabłonkiem oddechowym [4,5].

Uważa się, że jest to spowodowane inwazją nabłonka oddechowego w regiony pierwotnie zajmowane przez nabłonek węchowy [6]. Proces zastępowania obumarłych lub uszkodzonych neuronów węchowych przez komórki nabłonka oddechowego postępuje wraz z wiekiem [7], czego skutkiem jest stopniowe zmniejszanie się całkowitej powierzchni zajmowanej przez nabłonek węchowy.

Ponieważ komórki receptorowe nabłonka węchowego są jedynymi neuronami człowieka będącymi w bezpośrednim kontakcie ze środowiskiem zewnętrznym [8], są one szczególnie narażone na uszkodzenie. Degenerację komórek węchowych powodują czynniki toksyczne [9], infekcje wirusowe [10], przewlekłe infekcje bakteryjne [11], urazy jatrogenne [12], leki [13], urazy głowy [14], zaburzenia ukrwienia [15]. Jednocześnie nabłonek węchowy ma unikalną wśród komórek nerwowych zdolność do regeneracji [16,17]. Obumarłe lub uszkodzone komórki węchowe są w sposób ciągły zastępowane przez nowe, rozwijające się z niezróżnicowanych komórek podstawnych [18]. Badania Feroni [19] wykazały, że nawet u osób w podeszłym wieku komórki węchowe mają zdolność do neurogenezy i różnicowania. Ten sam autor sugeruje możliwość migracji komórek węchowych w obszary zajmowane przez nabłonek oddechowy. Te unikalne cechy nabłonka węchowego w znacznym stopniu utrudniają opracowanie dokładnych map jego występowania u ludzi.

Ostatnie doniesienia literaturowe wskazują na możliwość występowania receptorów węchowych o nietypowej lokalizacji. Leopold [20] rejestrował potencjały elektryczne z komórek węchowych (elektroolfaktogram) zlokalizowanych do góry i do dołu od przedniego przyczepu małżowiny nosowej środkowej. Badania immunocytochemiczne przy użyciu przeciwciał przeciw OMP (*Olfactory Marker Protein*) i α -tubulinie III wykazały obecność komórek węchowych nawet 22 mm do przodu od rowka węchowego, na bocznej, jak i na przyśrodkowej ścianie przewodu nosowego. Inni autorzy wykrywali komórki węchowe w błonie śluzowej małżowiny nosowej środkowej, w okolicy jej przedniego przyczepu [19,21]. To przesunięcie granicy występowania nabłonka węchowego ku przodowi tłumaczyłoby fakt odczuwania zapachów przez niektórych pacjentów z polipami nosowymi, pomimo całkowitej obturacji górnej i tylnej części przewodów nosowych.

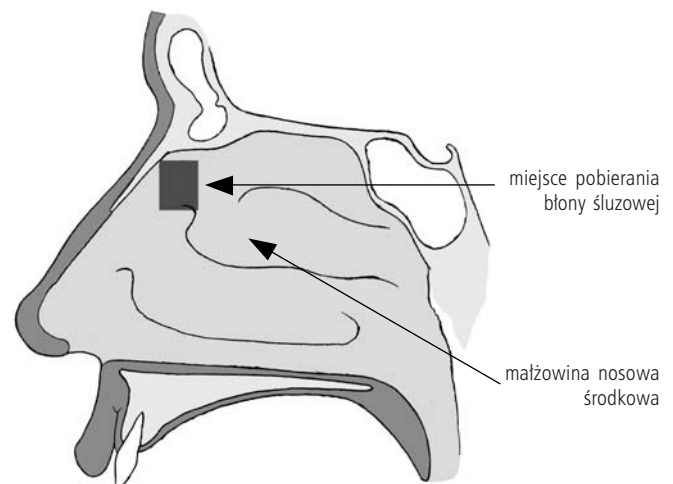
Celem pracy była ocena występowania komórek węchowych poza obszarem uznanym za typowy dla tego typu nabłonka.

MATERIAŁ I METODY

Badania wykonano *postmortem* u 30 osób (18 kobiet i 12 mężczyzn) zmarłych w wieku między 35 a 71 r.ż. (średnio 54). Do badań nie kwalifikowano osób leczonych za życia cytostatykami, z zaburzeniami gruczołów

wydzielania wewnętrznego (cukrzyca, hypotyreoza), niedokrwistością, przewlekłym stanem zapalnym zatok przynosowych nosa i przebytymi urazami głowy.

Fragment błony śluzowej bocznej ściany prawego lub lewego przewodu nosowego pobierano nie później niż w ciągu 15 godzin po zgonie. Błone śluzową odwarstwiano za pomocą nożyka sierpowego i elewatora pod kontrolą endoskopu, aby zminimalizować ryzyko mechanicznego uszkodzenia tkanki. Wymiary pobieranej błony śluzowej wynosiły ok. 1cm x 1cm, a tylna linia cięcia przechodziła tuż przed przednim przyczepem małżowiny nosowej środkowej.



Ryc. 1. Miejsce pobierania błony śluzowej

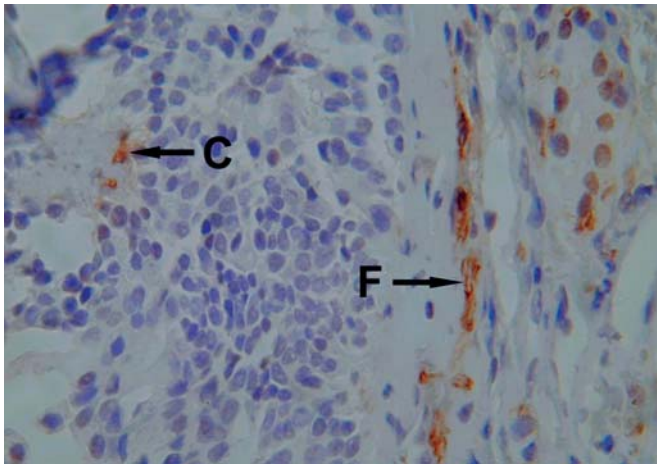
Materiał utrwalano w roztworze 4% formaldehydu w temp. 4°C, zatapiano w kostkach parafinowych. Skrawki grubości 7 μ barwiono hematoksyliną i eozyną. Do badań immunohistochemicznych wykorzystano przeciwciała przeciwko OMP (*Olfactory Marker Protein* – dzięki uprzejmości prof. F. Margolisa, Uniwersytet Maryland, Baltimore). Ocena mikroskopowa miała na celu stwierdzenie nabłonka węchowego, włókienek lub pęczków nerwu węchowego zlokalizowanych w błonie śluzowej właściwej.

WYNIKI

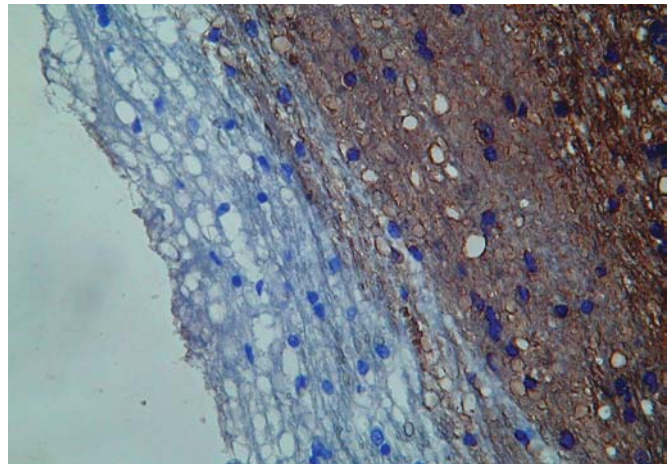
W materiale pobranym z 30 zwłok tylko w 4 (13,3%) przypadkach uzyskano pozytywną reakcję z przeciwciałem anti-OMP. Dotyczyła ona pojedynczych komórek węchowych w obrębie nabłonka oddechowego oraz drobnych włókienek nerwowych w błonie śluzowej właściwej.

W pozostałym materiale stwierdzono typową błonę śluzową pokrytą nabłonkiem oddechowym, z gruczołami surowiczo-śluzowymi, bez włókien nerwowych reagujących z anti-OMP w błonie śluzowej właściwej.

Średni wiek życia zmarłych, u których w badanym materiale wykryto włókna nerwowe nerwu wynosił ok. 41 lat, natomiast zmarłych, u których nie uzyskano pozytywnej reakcji z przeciwciałem anti-OMP, ok. 60.



Ryc. 2. Pojedyncze komórki (C) w obrębie nabłonka oddechowego i włókienka nerwu węchowego (F) w błonie śluzowej właściwej nosa, reagujące z przeciwciałem anti OMP. Preparat pobrany z przednio-górnej części przewodu nosowego. pow. 400x



Ryc. 3. Wybarwione na kolor brązowy włókno nerwu węchowego reagujące z przeciwciałem anti-OMP (kontrola dodatnia) pobrane z dostępu przez przedni dół czaszki z okolicy blaszki sitowej. pow. 400x

DYSKUSJA

Opracowanie dokładnych map występowania nabłonka węchowego miałyby istotne znaczenie w zrozumieniu funkcjonowania tego narządu zmysłu u ludzi. Jednakże badanie komórek węchowych napotyka na szereg trudności. Region węchowy nie jest łatwo dostępny badaniu, nawet przy użyciu endoskopu. Pobieranie wycinków, bez dokładnej wizualizacji tego obszaru, powoduje uzyskiwanie dużego odsetka ujemnych biopsji [22,23]. Paik [7] pobierając błonę śluzową z okolicy węchowej i badając ją w mikroskopie elektronowym dodatni wyniki biopsji uzyskał tylko w ok. 48% przypadków. Skuteczność wykrywania komórek węchowych jest większa przy wykorzystaniu metod immunocytochemicznych, z zastosowaniem przeciwciał przeciw specyficznym białkom komórek węchowych. W badaniach Lee i wsp. [11] z użyciem przeciwciał przeciw MAP5 (*Microtubule Associated Protein 5*) komórki węchowe wykryto w 61% próbek. Podobną skuteczność z zastosowaniem badań immunocytochemicznych uzyskali Lanza i wsp. [8]. Wykrycie komórek węchowych w materiale biopsyjnym utrudnia występowanie nabłonka węchowego w postaci wysp otoczonych przez nabłonek oddechowy, mała wielkość wycinka (średnio ok. 1 mm²) [8,19] oraz konieczność ograniczenia liczby wycinków pobieranych przyżyciowo do minimum. W czasie autopsji ilość pobieranego materiału może być znacznie większa. Z drugiej jednak strony czas upływający po zgonie może niekorzystnie wpływać na stabilność białek komórek węchowych wykrywanych metodami immunocytochemicznymi [24,25].

W badaniach własnych posłużyliśmy się przeciwciałem przeciw OMP. Przeciwciało to zostało wielokrotnie sprawdzone w badaniach komórek węchowych błony śluzowej pobieranej ze zwłok [26-29]. OMP jest

białkiem cytoplazmatycznym o masie cząsteczkowej 19 kDa występującym w dendrytach, aksonach dojrzających komórek węchowych i ich terminalach w opuszce węchowej [27,30].

Fragment błony śluzowej pobieraliśmy z okolicy zlokalizowanej w bezpośrednim sąsiedztwie, ku przodowi i górze od przedniego przyczepu małżowiny nosowej środkowej. W pracy nie badano występowania komórek węchowych ku tyłowi od przedniego przyczepu małżowiny nosowej środkowej, gdyż ich obecność w tym rejonie została już wcześniej potwierdzona [19-21]. Natomiast występowanie komórek węchowych do przodu od tego przyczepu wykazały, jak dotąd jedynie badania Leopolda i wsp. [20]; oparte one jednak były na małym materiale. Stosunkowo duża ilość pobieranego materiału i wyeliminowanie z badań osób obciążonych czynnikami ryzyka uszkodzenia neuronów węchowych zwiększało szanse ich odnalezienia. Mimo to, w badanej grupie tylko w 4 (13,3%) przypadkach udało się wykryć komórki węchowe i włókienka nerwu węchowego w błonie śluzowej właściwej w tej nietypowej okolicy.

Leopold i wsp. [20] badali występowanie komórek węchowych okolicy przedniego przyczepu małżowiny środkowej u pacjentów poddawanych zabiegom endoskopowym. Około 41% biopsji błony śluzowej było pozytywnych. Należy jednak zaznaczyć, że autorzy pobierali błonę śluzową z miejsc, gdzie stwierdzali pozytywne odpowiedzi w elektroolfaktografii. Poza tym większość dodatnich biopsji dotyczyła miejsc zlokalizowanych ku tyłowi od przedniego przyczepu małżowiny nosowej środkowej. Wyniki naszych badań pośrednio potwierdzają badania Ferona i wsp. [19], którzy wykazali, że im bardziej do przodu na małżowinie nosowej środkowej i górze na bocznej ścianie nosa, tym trudniej znaleźć komórki węchowe.

Niewielka liczba pacjentów, u których wykryliśmy neurony węchowe świadczy o znacznym rozproszeniu i rzadkim występowaniu komórek węchowych w badanym obszarze. Średni wiek życia zmarłych, u których odnaleźliśmy komórki węchowe był niższy niż tych, u których komórek węchowych nie odnaleziono. Pozostaje to w zgodności z doniesieniami Paika i wsp. [7], którzy stwierdzili, że wraz z wiekiem wykrycie komórek węchowych staje się coraz trudniejsze.

O tym, czy w naszych badaniach wykryliśmy tylko pojedyncze drobne skupiska komórek węchowych, czy też były to pozostałości większych wysp nabłonka wę-

chowego, który wraz z wiekiem został prawie całkowicie zastąpiony przez nabłonek oddechowy, można by się przekonać badając grupę młodszych pacjentów.

Stwierdzenie komórek węchowych w przednio-górnej części bocznej ściany nosa może sugerować, że okolica ta może mieć pewne znaczenie w odczuwaniu zapachów, przynajmniej u niektórych pacjentów. Rozsądne wydaje się, zatem unikanie traumatyzacji i oszczędne obchodzenie się z błoną śluzową okolicy przedniego przyczepu małżowiny środkowej podczas zabiegów endoskopowych.

Piśmiennictwo

- Williams PL, Warwick R. Functional neuroanatomy of man. Pa: Saunders WB Co, Philadelphia 1975: 1089.
- Hollinshead WH. Anatomy for surgeons. Vol. 1, edn. 2. The head and neck. Hagerstown, MD: Harper and Row, 1968.
- Moran DT, Rowley J, Jafek BW i wsp. The fine structure of the olfactory mucosa in man. *J Neurocytol* 1982; 11: 721-746.
- Nakashima T. Structure of human fetal and adult olfactory neuroepithelium. *Arch Otolaryngol* 1984; 110: 641-646.
- Morrison EE, Constanzo RM. Morphology of the human olfactory epithelium. *J Comp Neurol* 1990; 297: 1-13.
- Frish D. Ultrastructure of mouse olfactory mucosa. *Am J Anat* 1967; 121: 87-120.
- Paik SI, Lehman MN, Seiden AM i wsp. Human olfactory biopsy. The influence of age and receptor distribution. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1992; 118: 731-738.
- Lanza DC, Moran DT, Doty RL i wsp. Endoscopic human olfactory biopsy technique: A preliminary report. *Laryngoscope* 1993; 103: 815-819.
- Frye RP, Schwartz BS, Doty RL. Dose-related effects of cigarette smoking on olfactory function. *JAMA* 1990; 263: 1233-1236.
- Yamagishi M, Fujiwara M, Nakamura H. Olfactory mucosal findings and clinical course in patients with olfactory disorders following upper respiratory viral infection. *Rhinology* 1994; 32: 113-118.
- Lee SH, Lim HH, Lee HM i wsp. Olfactory mucosal findings in patients with persistent anosmia after endoscopic sinus surgery. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000; 109: 720-725.
- Kimmelman CP. The risk to olfaction from nasal surgery. *Laryngoscope* 1994; 104: 981-988.
- Cavaliere F, Schiavello R. Mucociliary flow in the nose during general and epidural anesthesia. *Acta Anesthesiol Belg* 1983; 34: 33-39.
- Talamo BR, Feng WH, Stockmayer M. Human olfactory epithelium: normal patterns and types of lesions found in the general population. *Inhalation Toxicol* 1994; 6: 249-275.
- Nakashima T, Kimmelman CP, Snow JBJr. Immunohistopathologic analysis of olfactory degeneration caused by ischemia. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1985; 93: 40-47.
- Kern RC, Quinn B, Rosseau G i wsp. Post-traumatic olfactory dysfunction. *Laryngoscope* 2000; 110: 2106-2109.
- Verhaagen J, Oestreicher AB, Grillo M i wsp. Neuroplasticity in the olfactory system: Differential effects of central and peripheral lesions of the primary olfactory pathway on expression of B50/GAP43 and the olfactory marker protein. *J Neurosci Res* 1990; 26: 31-44.
- Heilmann S, Hummel T, Margolis FL i wsp. Immunohistochemical distribution of galectin-1, galectin-3, and olfactory marker protein in human olfactory epithelium. *Histochem Cell Biol* 2000; 113: 241-245.
- Feron F, Perry C, McGrath JJ i wsp. New techniques for biopsy and culture of human olfactory epithelial neurons. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 124: 861-866.
- Leopold DA, Hummel T, Schwob JE i wsp. Anterior distribution of human olfactory epithelium. *Laryngoscope* 2000; 110: 417-421.
- Rawson NE, Gomez G, Cowart B i wsp. Selectivity and response characteristics of human olfactory neurons. *J Neurophysiol* 1997; 77: 1606-1613.
- Jafek BW, Eller PM, Esses BA i wsp. Post-traumatic anosmia: Ultrastructural correlates. *Arch Neurol* 1989; 46: 300-304.
- Lovell MA, Jafek BW, Moran DT i wsp. Biopsy of human olfactory mucosa: An instrument and a technique. *Arch Otolaryngol* 1982; 108: 247-249.
- Irving EA, McCulloch J, Dewar D. The effect of postmortem delay on distribution of microtubule-associated proteins MAP2, and MAP5 in the rat. *Molecular and Chemical Neuropathology* 1997; 30: 253-271.
- Schwab C, Bondada V, Sparks DL i wsp. Postmortem changes in the levels and localization of microtubule-associated proteins (tau, MAP2, MAP1b) in the rat and human hippocampus. *Hippocampus* 1994; 4: 210-225.
- Arnold SE, Han LY, Moberg PJ i wsp. Dysregulation of olfactory receptor neuron lineage in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2001; 58: 829-835.
- Nakashima T, Kimmelman CP, Snow SBJr. Olfactory marker protein in the human olfactory pathway. *Arch Otolaryngol* 1985; 111: 294-297.
- Shi L, Chen Y, Ren X i wsp. Expression of neuron-specific enolase and olfactory marker protein in the developing olfactory mucosa of human fetuses (abstract). *Zhonghua ER Bi Yan Hou Ke Za Zhi* 2003; 38: 180-182.
- Witt M, Georgiewa B, Knecht M i wsp. On the chemosensory nature of vomeronasal epithelium in adult humans. *Histochem Cell Biol* 2002; 117: 493-509.
- Rama Krishna NS, Gethell TV, Margolis FL i wsp. Amphibian olfactory receptor neurons express olfactory marker protein. *Brain Research* 1992; 593: 295-298.