

© Павлуш Д.Г., Дюйзен И.В., 2021

DOI: 10.31088/СЕМ2021.10.3.29-38

УДК 611.1-002-006.5-003.2

## Маркеры воспаления в слизистой оболочке носа и полипозно измененных тканях при полипозном риносинусите

Д.Г. Павлуш<sup>1</sup>, И.В. Дюйзен<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, Владивосток, Россия

<sup>2</sup> ФГБУН Национальный научный центр морской биологии имени А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН, Владивосток, Россия

**Введение.** Проблема полипозного риносинусита (ПРС) в настоящее время до конца не изучена, молекулярные факторы и механизмы, участвующие в иницировании полипозных трансформаций слизистой оболочки (СО) и поддерживающие вероятность их рецидива, не определены. Вместе с тем понимание молекулярной перестройки в тканях СО совершенно необходимо для формирования клинических прогнозов и адекватной терапевтической или хирургической стратегии лечения ПРС. Цель исследования – выявление особенностей локализации и распределения маркеров воспаления в слизистой оболочке носа и полипах разного морфологического типа у пациентов с полипозным риносинуситом.

**Материалы и методы.** Исследованы морфохимическая структура полипов полости носа и участки СО нижних носовых раковин. Материал для гистологического исследования получен при хирургическом лечении пациентов с диагнозом «полипозный риносинусит». Группа сравнения представлена пациентами без полипозной и сопутствующей воспалительной и аллергической патологии СО с диагнозом «искривление перегородки носа», которым была выполнена риносептопластика. Участки удаленной в ходе операции СО носа использовались для сравнительной характеристики морфохимических изменений.

Методом иммуногистохимии определяли тканевую локализацию и распространение SP, NK1, nNOS, iNOS и IL1b.

**Результаты.** Установлено, что формирование полипозных изменений в полости носа сопровождается морфохимическими изменениями на участках слизистой оболочки нижних носовых раковин. В полипах разного морфологического типа изменения активности маркеров воспаления имеют специфический характер.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что изменения в СО нижних носовых раковин, сопутствующие развитию полипоза, формируют определенный патологический фон, способный индуцировать и поддерживать течение патологического процесса. Выявлены особенности специфического сигнального микроокружения в полости носа, обеспечивающие особые условия для формирования разного типа полипозных изменений. Специфика активности и распределения маркеров воспалительного процесса в тканях полипов разного морфологического типа может служить предпосылкой для разработки методов персонализированной терапии данной патологии.

**Ключевые слова:** полипозный риносинусит, воспаление, нейрокининовые рецепторы, вещество P, оксид азота

**Для корреспонденции:** Дмитрий Георгиевич Павлуш. E-mail: pavlush.dmitrij@yandex.ru

**Для цитирования:** Павлуш Д.Г., Дюйзен И.В. Маркеры воспаления в слизистой оболочке носа и полипозно измененных тканях при полипозном риносинусите. Клини. эксп. морфология. 2021;10(3):29–38. DOI: 10.31088/СЕМ2021.10.3.29-38.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 22.04.2021. Получена после рецензирования 27.05.2021. Принята в печать 15.06.2021.

## Inflammatory markers in the nasal mucosa and polyp-modified tissues in chronic rhinosinusitis with nasal polyps

D.G. Pavlush<sup>1</sup>, I.V. Dyuzhen<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

<sup>2</sup> A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

**Introduction.** To date, chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) has not yet been extensively studied: the molecular factors and mechanisms involved in the initiation of polypous transformations in

nasal mucosa (NM) and sustaining their recurrence probability are still to be determined. Simultaneously, it is necessary to understand the molecular rearrangement in NM tissues to make clinical prognosis and choose an adequate therapeutic or surgical strategy for CRSwNP treatment. The aim of the study was to identify the features of how inflammatory markers localize and are distributed in the NM and polyps in various morphological CRSwNP types.

*Materials and methods.* We studied morphological and chemical structure of nasal polyps and mucosa of the inferior turbinates. The material was obtained during surgical management of patients diagnosed with CRSwNP. The comparison group involved the patients with a deviated septum who underwent septorhinoplasty and had neither polyposis nor concomitant inflammatory/allergic pathology. The NM removed in surgeries was used to compare morphological and chemical changes. Immunohistochemistry was applied to determine the localization and distribution of SP, NK1, nNOS, iNOS, and IL1b in the tissues.

*Results.* The formation of nasal polyps was found to be accompanied by morphological and chemical alterations in the mucous membrane of the inferior turbinates. In polyps of different morphological types, the changes in the activity of inflammatory markers were specific.

*Conclusion.* The data obtained indicate that changes in the NM of the inferior turbinates, which accompany polyposis development, give certain pathological causes that induce and maintain the pathological process. We have revealed the features of the specific signaling microenvironment in the nasal cavity, which provide special conditions for the formation of polyps of various types. The specificity of the activity and distribution of inflammatory markers in the polyps of different morphological types may serve as a prerequisite for the development of personalized therapy for the disease.

**Keywords:** chronic rhinosinusitis with nasal polyps, inflammation, neurokinin receptors, substance P, nitric oxide

**Corresponding author:** Dmitry G. Pavlush. E-mail: pavlush.dmitrij@yandex.ru

**For citation:** Pavlush D.G., Dyuzen I.V. Inflammatory markers in the nasal mucosa and polyp-modified tissues in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Clin. exp. morphology. 2021;10(3):29–38. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.29-38 (In Russ.).

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no conflicts of interest.

**Received** 22.04.2021. **Received in revised form** 27.05.2021. **Accepted** 15.06.2021.

## Введение

Полипозный риносинусит (ПРС) является хроническим воспалительным заболеванием полости носа и околоносовых пазух. Встречается у взрослых и составляет от 1 до 5% на 100 000 населения. По особенностям морфологических изменений в ткани полипов их можно разделить на несколько вариантов. В нашем предыдущем исследовании [1] были охарактеризованы основные морфологические признаки, присущие разным типам полипозно измененной слизистой оболочки (СО).

I. Отечный (простой) тип характеризуется отеком стромы, уменьшением числа фибробластов и соединительнотканых волокон, увеличением числа бокаловидных клеток в составе эпителия.

II. Аллергический (эозинофильный) тип полипа характеризуется наличием большого числа воспалительных инфильтратов, клеточный состав которых представлен преимущественно эозинофилами, моноцитами и тучными клетками. Отмечается трансформация многоядного мерцательного эпителия в многослойный плоский. В строме заметно уменьшена плотность кровеносных сосудов.

III. Фиброзный тип (фиброзно-сосудистые, фиброзно-кистозные, фиброзно-железистые полипы) представляет наиболее полиморфную группу [1]. Общие

признаки данного типа – плотное компактное, нередко фиброзное строение стромы, выраженная гиперплазия серозно-слизистых желез с признаками формирования кист, большая плотность расположения микрососудов [2, 3].

В настоящее время молекулярные факторы и механизмы, участвующие в иницировании полипозных трансформаций СО и поддерживающие вероятность их рецидива, до конца не определены. Вместе с тем понимание молекулярной перестройки в тканях СО совершенно необходимо для формирования клинических прогнозов и адекватной терапевтической или хирургической стратегии лечения ПРС [4]. При консервативных методах терапии полипов отечного и фиброзного типа широко используют глюкокортикостероиды системного действия, которые обладают противовоспалительным и иммуносупрессивным действием. Для полипов отечного и аллергического типа еще одним консервативным методом лечения является применение блокаторов лейкотриеновых рецепторов и топических назальных глюкокортикостероидов [4–7].

Известно, что в патологии СО наряду с воспалительными процессами бактериальной, вирусной или аллергической природы большое значение имеет фактор нейрогенного механизма воспаления, клеточно-молекулярными исполнителями которого служат нейро-

пептиды, и газообразные нейротрансмиттеры (оксид азота) [8–10].

Вещество P (SP), как известно, выделяется из чувствительных нервных окончаний. Кроме того, секретировать данный медиатор способны некоторые клеточные элементы иммунной системы (макрофаги, лимфоциты). Вещество P способствует повышению выработки слизи на всем протяжении дыхательных путей, активирует тучные клетки, вызывает их дегрануляцию и выделение гистамина, индуцирует хемотаксис моноцитов, нейтрофилов и эозинофилов, стимулирует макрофаги для дальнейшего производства медиаторов воспаления и цитокинов [11, 12]. Его рецепторы (нейрокининовые рецепторы типа 1, NK1) обнаруживаются на поверхности иммунопозитивных элементов воспалительных инфильтратов, на эпителии и железистых эпителиоцитах, на эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов. Активация NK1 рецепторов увеличивает вазодилатацию, межтканевый отек в полости носа что приводит к затруднению воздухообмена в верхних дыхательных путях [5, 11, 13].

Оксид азота за счет активности нейрональной NO-синтазы (nNOS) продуцируется нервными волокнами, эпителиоцитами желез, а также эндотелиальными клетками капилляров и артериол. В патофизиологии ПРС роль NO обусловлена как избыточной продукцией нейромедиатора из данных источников, так и присоединением активности индуцибельного фермента (iNOS) в макрофагах. Функция NO в этом случае направлена на модулирование воспалительных процессов, иммунологических реакций и эффективности локального кровотока [12–14].

Вне зависимости от индуктора воспаления (классическое или нейрогенное) внутритканевая перестройка и взаимодействия клеток иммунной системы обеспечиваются активностью про- и противовоспалительных цитокинов. Интерлейкин 1 $\beta$  (IL 1 $\beta$ ) является классическим медиатором воспаления, считается физиологическим индуктором интерферона  $\gamma$ , вырабатывается в большей степени мононуклеарными фагоцитами, и небольшое количество его синтезируют эндотелиоциты и фибробласты. IL 1 $\beta$  обладает широким спектром воспалительных, физиологических, иммунологических и других свойств и играет важную роль в патогенезе полипозных изменений СО [15].

Цель исследования – выявить особенности локализации маркеров воспаления в СО носа и полипах разного морфологического типа у пациентов с ПРС.

### Материалы и методы

Объектами исследования были материал полипов полости носа и участки СО нижних носовых раковин. Материал получен у пациентов женского и мужского пола в возрасте от 35 до 70 лет, всего 70 человек (50 пациентов в группе исследования и 20 пациентов в группе сравнения). Группа исследования представлена пациентами с клинически верифицированным диагнозом

«полипозный риносинусит» без сопутствующей воспалительной (гнойный верхнечелюстной риносинусит) и аллергической (аллергический ринит, бронхиальная астма, аспириновая триада) патологии. Материал для гистологического исследования тканей полипа и СО нижних носовых раковин получен при хирургическом лечении пациентов с ПРС. Группа сравнения представлена пациентами без полипозной и сопутствующей воспалительной и аллергической патологии СО, с диагнозом «искривление перегородки носа», которым была выполнена риносептопластика. Участки удаленной в ходе операции СО носа использовались для сравнительной характеристики морфохимических изменений.

На проведение исследования получено одобрение междисциплинарного комитета по этике Тихоокеанского государственного медицинского университета (протокол № 4 от 15 декабря 2014 года). Включение пациентов в исследуемую группу и группу сравнения осуществлялось при наличии их информированного согласия. Все пациенты были госпитализированы в оториноларингологическое отделение владивостокской клинической больницы № 1. Всем им проведено полное клиническое предоперационное обследование.

*Иммуногистохимическое исследование.* Кусочки полипов полости носа и участки СО нижних носовых раковин фиксировали в 4% растворе забуференного параформальдегида и заливали в парафин по общепринятой методике. Из полученного материала после заливки изготавляли гистологические препараты толщиной 7 мкм на ротационном микротоме (Leica, Германия), на которых с помощью стандартного иммунопероксидазного метода выявляли локализацию следующих маркеров: вещество P (SP), нейрокининовый рецептор 1-го типа (NK1), нейрональная NO-синтаза (nNOS), индуцибельная NO-синтаза (iNOS), интерлейкин 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ). Данные об использованных первичных антителах приведены в таблице 1. Вторичные антитела, меченные пероксидазой хрена (PI-1000 (anti-rabbit), PI-2000 (anti-mouse), США, 1:100), получены от фирмы Vector Laboratories (США) и использовались в соответствии с инструкциями производителя.

Просмотр и фотографирование микропрепаратов осуществляли на световом микроскопе AxioScopeA1 (Carl Zeiss, Германия). Морфометрическую оценку проводили с использованием программы ImageJ 4.0. Для каждого маркера подсчитывали удельную плотность иммунопозитивных структур (иммунопозитивная зона по отношению к объему ткани) и удельную плотность распределения иммунопозитивных элементов.

Статистическую обработку материалов проводили с помощью программного обеспечения Windows 7, с использованием программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 10. Значение исследуемых объектов отличалось от нормального распределения (критерии Шапиро–Уилка). В сравниваемых группах количественные данные представляли в виде медианы и межквартиль-

Характеристика первичных антител |  
 Characteristics of primary antibodies

Антитела   Antibodies	Производитель   Manufacturer	Источник моноклональных антител   Monoclonal antibody source	Разведение   Dilution
SP	Abcam ab14184, США   USA	Мышь   Mouse	1:500
NK1	Chemicon AB 5060, США   USA	Мышь   Mouse	1:500
IL1 $\beta$	Abcam ab226918 США   USA	Кролик   Rabbit	1:150
iNOS	Abcam ab115819, США   USA	Кролик   Rabbit	1:100
nNOS	Abcam ab40662, США   USA	Кролик   Rabbit	1:150

ных интервалов Med ( $H_{\text{кв}}$ ,  $B_{\text{кв}}$ ), Med (медиана),  $H_{\text{кв}}$  (нижний квартиль),  $B_{\text{кв}}$  (верхний квартиль). Различия во всех случаях считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования

В ходе исследования установлено, что при развитии полипозных изменений в носовой полости отдаленные участки СО носа имеют значительные морфохимические перестройки. При этом особенности локализации и активности маркеров воспаления определяются типом полипозного образования.

**Вещество P (SP).** В СО носа пациентов из группы сравнения вещество P локализовалось в тканевых элементах всех слоев, но преобладало в эпителиоцитах концевых отделов и выводных протоков желез, нервных волокнах, оплетающих кровеносные сосуды и железы, а также в единичных клетках респираторного эпителия (рис. 1 А).

Наличие в носовой полости полипозных изменений находит отражение в распределении данного маркера в СО нижних носовых раковин. Формирование полипоза любого морфологического типа сопровождается увеличением площади иммуногистохимического окрашивания на SP в собственной пластинке СО в ее соединительнотканых волокнах (рис. 1 В), при этом в покровном и железистом эпителии окрашивание практически отсутствует (табл. 2, 3). В СО при развитии полипов аллергического морфотипа активность SP нарастает за счет значительного увеличения содержания маркера в нервных волокнах.

Непосредственно в ткани полипов распределение и количественное содержание данного маркера зависит от морфологического типа полипа. Обращает на себя внимание высокая активности SP в цитоплазме клеток воспалительных инфильтратов, при этом максимальное число иммунопозитивных элементов демонстрируют ткани полипов аллергического типа. Характерной чертой полипов данного морфотипа является также содержание маркера в клеточных элементах стенок кровеносных сосудов (рис. 1 С). В полипах аллергического типа наряду с описанными изменениями наличие маркера наблюдалось в эпителии, а именно в верхней части эпителиоцитов.

**Нейрокининовые рецепторы 1-го типа (NK1).** Рецепторы к веществу P (NK1-рецепторы) в СО полости носа пациентов из группы сравнения обнаружены в собственной пластинке слизистой оболочки, где маркируют элементы стенок сосудов, выводные протоки и концевые отделы желез. Высокая концентрация NK1-рецепторов располагается на гладкомышечных клетках крупных кровеносных сосудов, мембране эпителиоцитов, выстилающих выводные протоки, и в меньшей степени на сероцитах желез и клетках эпителия (рис. 1 D).

В СО носа при развитии ПРС распределение данного маркера менялось (табл. 2, 3). При аллергическом типе полипов активность NK1 преимущественно определялась в структуре желез, а в гладкомышечных элементах стенок сосудов уменьшалась (по сравнению с контролем) и практически исчезала в однослойном многорядном мерцательном эпителии. При полипах отечного типа в СО регистрировались значительное увеличение содержания NK1 в гладкомышечных элементах сосудистой стенки (рис. 1 E) и уменьшение активности маркера в glanduloцитах желез. В СО носа при фиброзном типе полипов NK1 были распределены в стенке сосудов и железах.

В тканях полипов распределение данного маркера характеризуется активностью NK1 в эпителии, где значительно возрастает, а его наличие в собственной пластинке СО уменьшается. Из всех исследованных образцов в полипах отечного типа обнаружено наименьшее содержание данного маркера, а ткани полипа фиброзного типа, напротив, характеризовались максимальной активностью данного маркера в покровном эпителии (табл. 2, 3). В полипах отечного типа NK1 рецепторы распределялись в стенке кровеносных сосудов и отдельных клеточных элементах в собственной пластинке СО. Важное отличие полипов аллергического и фиброзного типа – преобладание NK1-позитивных клеточных элементов в составе воспалительных инфильтратов (рис. 1 F).

**Нейрональная NO-синтаза (nNOS).** В СО носа пациентов из группы сравнения экспрессия nNOS распределялась в субэпителиальном слое и собственной пластинке слизистой оболочки, на участках прохожде-

Таблица 2 | Table 2

**Сравнительная характеристика СО полости носа/нижних носовых раковин (группа сравнения)  
и слизистой полости носа пациентов при ПРС Med ( $H_{\text{кв}}$ ,  $B_{\text{кв}}$ ,  $B_{\text{кв МКМ}}$ ) |  
Comparative characteristics of the nasal cavity/inferior turbinate mucosa (comparison group)  
and nasal mucosa in CRSwNP patients Med (LQ, UQ  $\mu\text{m}$ )**

Маркер   Marker	Показатели СО при разных типах ПРС   Mucous membrane indicators for different CRSwNP types		
	морфологический тип полипа   polyp morphological type	эпителий (площадь положительной зоны)   epithelium (positive zone area)	собственная пластинка (площадь положительной зоны)   lamina propria (positive zone area)
SP	Отечный   Edematous (n=32)	–	–
	Аллергический   Allergic (n=12)	–	3,89 (2,05; 5,15)
	Фиброзный   Fibrous (n=6)	–	9,24 (9,15; 9,52)
	Группа сравнения   Comparison group (n=4)	1,58 (1,57; 1,98)	3,16 (1,79; 4,34)
NK1	Отечный   Edematous (n=32)	–	7,12 (7,12; 7,29)
	Аллергический   Allergic (n=12)	–	18,66 (10,97; 24,52)
	Фиброзный   Fibrous (n=6)	–	10,15 (8,52; 10,65)
	Группа сравнения   Comparison group (n=4)	1,32 (1,32; 1,45)	11 (10,12; 13,59)
nNOS	Отечный   Edematous (n=32)	–	2,71 (1,58; 5,25)
	Аллергический   Allergic (n=12)	–	4,67 (3,6; 5,82)
	Фиброзный   Fibrous (n=6)	–	4,79 (1,8; 7,77)
	Группа сравнения   Comparison group (n=4)	–	2,31 (2,11; 2,43)
iNOS	Отечный   Edematous (n=32)	–	4,46 (1,25; 8,82)
	Аллергический   Allergic (n=12)	–	–
	Фиброзный   Fibrous (n=6)	–	–
	Группа сравнения   Comparison group (n=4)	–	1,58 (1,56; 2,18)
IL 1 $\beta$	Отечный   Edematous (n=32)	2,12 (1,62; 2,12)	6,08 (3,8; 7,31)
	Аллергический   Allergic (n=12)	12,17 (8,75; 15,42)	12,68 (11,71; 16,33)
	Фиброзный   Fibrous (n=6)	12,87 (12,18; 16,88)	11,83 (8,96; 12,89)
	Группа сравнения   Comparison group (n=4)	–	–

Здесь и в таблице 3 результаты представлены в виде Med ( $H_{\text{кв}}$ ,  $B_{\text{кв}}$ ), где Med – медиана,  $H_{\text{кв}}$  – нижний квартиль,  $B_{\text{кв}}$  – верхний квартиль. Статистически значимые отличия от группы сравнения ( $p \leq 0,05$ )

Here and in Table 3: the results are presented as Med (LQ, UQ), where Med is the median, LQ – the lower quartile, and UQ – the upper quartile. We noted statistically significant differences from the comparison group ( $p \leq 0.05$ )

ния нервных волокон. Мощные пучки NO-ергических проводников (рис. 1 G) проходили в составе межжелезистой соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки и оплетали концевые отделы и выводные протоки желез. Эпителий на nNOS не маркировался.

Общий признак, характерный для СО носа с полипозными изменениями, – уменьшение активности nNOS в нервных проводниках (рис. 1 H). При этом количественное содержание маркера в других элементах собственной пластинки СО нарастало (табл. 2, 3). При полипах отечного типа nNOS это происходило за счет повышения активности фермента в цитоплазме клеток концевых отделов желез и эпителиоцитов выводных протоков. В СО при полипах аллергического типа nNOS селективно маркировала клетки эпителия,

а в собственной пластинке СО – стенку кровеносных сосудов, выводные протоки и концевые отделы желез. В СО носа при развитии полипов фиброзного типа nNOS маркировала субэпителиальные участки ткани, иногда индуировала утолщенную базальную мембрану. В собственной пластинке СО маркер селективно окрашивал отдельные железистые эпителиоциты и клеточные элементы стенки кровеносных сосудов (рис. 1 H).

Преимущественное субэпителиальное распределение nNOS характерно и для тканей полипов – иммуногистохимическая реакция обнаружена в утолщенной базальной мембране (рис. 1 I). При отечном и аллергическом типе полипов маркер обнаруживался также по ходу кровеносных сосудов. В полипах фиброзного типа nNOS располагалась в эпителиоцитах желез и не-

Сравнительная характеристика маркеров в полипозно измененных тканях при ПРС Med ( $H_{кв}$ ,  $V_{кв}$ ,  $M_{кв}$ ) |  
Comparative characteristics of markers in polyposis-altered tissues in CRSwNP Med (LQ, UQ  $\mu$ m)

Маркер   Marker	Тканевые элементы полипа (удельная плотность распределения)   Polyp tissue elements (specific distribution density)	Отечный тип полипа   Edematous polyp type (n=32)	Аллергический тип полипа   Allergic polyp type (n=12)	Фиброзный тип полипа   Fibrous polyp type (n=6)
SP	Эпителий   Epithelium	–	4,28 (2,16; 4,95)	–
	Собственная пластинка   Lamina propria	–	7,07 (5,05; 13,01)	6,32 (5,22; 7,28)
	Иммунопозитивные клетки (воспалительных инфильтратов)   Immunopositive cells (inflammatory infiltrates)	39 (38; 42)	40 (38; 41)	28,5 (25,6; 34,9)
NK1	Эпителий   Epithelium	2,6 (1,46; 5,2)	10,33 (8,66; 10,63)	14,38 (10,3; 20,15)
	Собственная пластинка   Lamina propria	2,29 (2,04; 2,32)	6,78 (5,23; 7,35)	8,24 (7,81; 10,79)
	Иммунопозитивные клетки (воспалительных инфильтратов)   Immunopositive cells (inflammatory infiltrates)	19,11 (16,28; 27,68)	20 (17,4; 41,6)	27,84 (23,89; 30,63)
nNOS	Эпителий   Epithelium	–	–	–
	Собственная пластинка   Lamina propria	4,64 (3,94; 5,29)	4,06 (3,74; 4,4)	5,8 (4,58; 6,3)
	Иммунопозитивные клетки (воспалительных инфильтратов)   Immunopositive cells (inflammatory infiltrates)	1,9 (1,6; 2,3)	–	1,7 (1,4; 2,2)
iNOS	Эпителий   Epithelium	16,19 (13,44; 20,06)	3,26 (1,86; 4,67)	6,72 (3,33; 13,48)
	Собственная пластинка   Lamina propria	6,03 (5,58; 9,06)	–	4,9 (4,67; 8,83)
	Иммунопозитивные клетки (воспалительных инфильтратов)   Immunopositive cells (inflammatory infiltrates)	22 (17; 36)	27,5 (18,8; 36,6)	8,57 (6,04; 12,66)
IL 1 $\beta$	Эпителий   Epithelium	12,63 (6,73; 24,06)	13,06 (13; 35,76)	27,02 (12,92; 29,91)
	Собственная пластинка   Lamina propria	–	8,25 (7,80; 10,79)	7,74 (6,14; 9,28)
	Иммунопозитивные клетки (воспалительных инфильтратов)   Immunopositive cells (inflammatory infiltrates)	39 (38; 42)	40 (38; 42)	24,9 (16,7; 33,0)

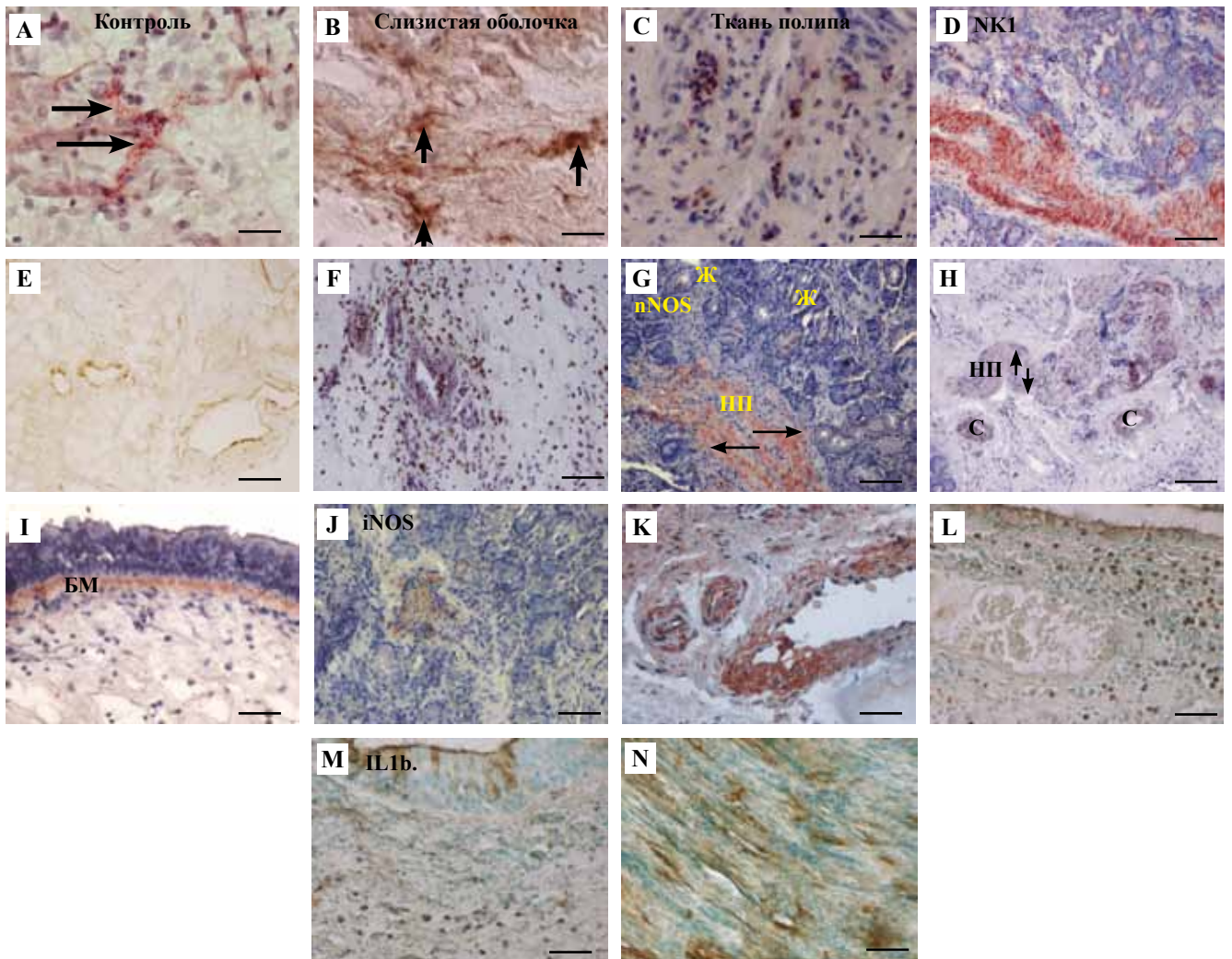
Статистически значимые отличия от группы сравнения ( $p \leq 0,05$ )

We noted statistically significant differences from the comparison group ( $p \leq 0.05$ )

большой популяции мононуклеарных клеток, а в ножке полипа маркировала единичные нервные волокна (табл. 3).

*Индукцибельная NOS (iNOS).* В СО полости носа у пациентов из группы сравнения экспрессия iNOS практически отсутствовала. Единственное место локализации фермента – верхняя часть эпителиоцитов выводных протоков желез (рис. 1 J). При наличии полипоза активность iNOS в СО значительно нарастала, в первую очередь за счет экспрессии фермента в стенке кровеносных сосудов и железистых эпителиоцитах (рис. 1 K) (табл. 2).

В полипозной ткани происходило нарастание активности данного маркера. В полипах отеочного морфотипа iNOS экспрессировалась в реснитчатых и бокаловидных эпителиоцитах и в клетках субэпителиального слоя (рис. 1 L). В строме данный фермент присутствовал в эндотелиоцитах сосудов и умеренно маркировал полиморфноядерные клетки воспалительных инфильтратов (табл. 3). В полипе аллергического типа iNOS выявлялась лишь в небольшой части эпителиоцитов, но экспрессировалась в обширной популяции клеток воспалительных инфильтратов. В полипах фиброзного типа высокая активность фермента



**Рис. 1.** Особенности локализации иммуногистохимических маркеров воспаления в слизистой оболочке носа группы сравнения (А, D, H, K), в слизистой оболочке при наличии в полости носа полипозного образования (B, E, H, K, M) и в ткани полипа (C, F, I, L, N). А–С. Распределение активности вещества Р. А – афферентные нервные волокна (*стрелки*) в СО носа группы сравнения,  $\times 400$ . В – афферентные нервные волокна (*стрелки*) в собственной пластинке СО при полипах аллергического типа,  $\times 200$ . С – полип аллергического типа,  $\times 400$ . Иммунопероксидазная реакция на SP, докрасивание гематоксилином. D–F. Распределение активности нейрокининовых рецепторов NK1. D – СО носа, группа сравнения,  $\times 200$ . E – СО, полип отеочного типа,  $\times 200$ . F – полип аллергического типа,  $\times 200$ . Иммунопероксидазная реакция на NK1, докрасивание гематоксилином (D и F). G–I. Особенности распределения nNOS. G – СО носа, группа сравнения. Мощные пучки NO-ергических проводников (НП – нервные проводники) (Ж – железы),  $\times 200$ . H – СО при полипе аллергического типа. (НП – нервные проводники), (С – сосуды),  $\times 200$ . I – полип фиброзного типа. (БМ – базальная мембрана),  $\times 400$ . Иммунопероксидазная реакция на nNOS, докрасивание гематоксилином. J–L – особенности распределения iNOS. J – СО носа, группа сравнения,  $\times 200$ . K – полип фиброзного типа,  $\times 400$ . L – СО при полипе отеочного типа,  $\times 400$ . Иммунопероксидазная реакция на iNOS, докрасивание гематоксилином (J и K), докрасивание метиленовым зеленым (L). M, N – особенности распределения IL1 $\beta$ . M – СО при аллергическом типе полипов,  $\times 400$ . N – полип фиброзного типа,  $\times 200$ . Иммунопероксидазная реакция на IL1 $\beta$ , докрасивание метиленовым зеленым

**Fig. 1.** Immunohistochemical features of inflammatory marker localization in the nasal mucosa of the comparison group (A, D, H, K), in the mucous membrane with polyposis present in the nasal cavity (B, E, H, K, M), and in the polyp tissue (C, F, I, L, N). A – C. Distribution of the substance P activity. A – afferent nerve fibers (*arrows*) in the nasal mucosa of the comparison group,  $\times 400$ . B – afferent nerve fibers (*arrows*) in the nasal lamina propria in allergic type polyps,  $\times 200$ . C – allergic type polyp,  $\times 400$ . Immunoperoxidase reaction to SP, counterstained with hematoxylin. D – F. Activity distribution of neurokinin NK1 receptors. D – nasal mucosa, comparison group,  $\times 200$ . E – nasal mucosa, polyp of edematous type,  $\times 200$ . F – allergic polyp type,  $\times 200$ . Immunoperoxidase reaction to NK1, counterstained with hematoxylin (D and F). G – I. nNOS distribution features. G – nasal mucosa, comparison group. Powerful bundles of NO-ergic conductors (НП – nerve conductors). (Ж – glands),  $\times 200$ . H – nasal mucosa in an allergic type polyp. (НП – nerve conductors, C – vessels),  $\times 200$ . I – fibrous polyp. (БМ – basement membrane),  $\times 400$ . Immunoperoxidase reaction to nNOS, counterstained with hematoxylin. J – L. iNOS distribution features. J – nasal mucosa, comparison group,  $\times 200$ . K – fibrous polyp,  $\times 400$ . L – nasal mucosa in an edematous polyp,  $\times 400$ . Immunoperoxidase reaction to iNOS, counterstained with hematoxylin (J and K), counterstained with methylene green (L). M, N. IL1 $\beta$  distribution features. M – nasal mucosa in allergic polyp,  $\times 400$ . N – fibrous polyp,  $\times 200$ . Immunoperoxidase reaction to IL1 $\beta$ , counterstained with methylene green

регистровалась в субэпителиальной зоне полипов, стенке крупных кровеносных сосудов и железистых эпителиоцитах.

*Интерлейкин 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ )*. Активность провоспалительного цитокина в СО пациентов из группы сравнения не обнаружена. Развитие полипоза в полости носа сопровождалось экспрессией маркера как в СО нижних носовых раковин, так и в полипозно измененной ткани (табл. 2). В СО нижних носовых раковин цитокин регистрировался в клетках респираторного и железистого эпителия, стенке кровеносных сосудов и цитоплазме отдельных клеток в собственной пластинке (рис. 1 М). Описанные тканевые элементы маркированы на IL1 $\beta$  и в ткани полипов всех морфотипов. Кроме того, высокую интенсивность окрашивания приобретали клетки воспалительных инфильтратов, особенно в полипах аллергического и фиброзного типа, а также эндотелиальные клетки новообразованных сосудов (рис. 1 N).

## Обсуждение

Мы изучали распределение ряда маркеров, активность которых может определять особенности развития воспалительных процессов (в том числе нейрогенного воспаления) в СО носа, приводящих к формированию, прогрессированию и рецидиву ПРС. Основываясь на морфологической классификации полипозно измененных тканей [1, 2, 10] и учитывая данные о роли каждого из исследованных факторов в патогенезе пролиферативных и воспалительных заболеваний СО [1, 3, 14], мы провели детальную характеристику специфики тканевого распределения и активности компонентов нейрокининовой системы (вещество Р и его рецептор NK1), системы синтеза оксида азота (нейрональная и индуцибельная NO-синтаза) и провоспалительного цитокина IL1 $\beta$  в тканях полипа, а также на участках СО пациентов с ПРС.

Исследование показало, что SP-иммунореактивные элементы широко распространены в эпителии, железах и стенках сосудов как СО носа, так и ткани полипов. При сравнении активности SP в СО носа пациентов из группы сравнения и пациентов с полипами разного типа отмечено увеличение числа SP-позитивных нервных волокон и позитивных клеточных элементов воспалительных инфильтратов в тканях СО при аллергическом типе полипа. Можно предположить, что повышенная активность SP способствует перестройке ткани СО носа и провоцирует процесс полипообразования, который поддерживается феноменом нейрогенного воспаления. Подтверждением этому является избытие SP-позитивных клеточных элементов в составе воспалительных инфильтратов, наблюдаемых в полипозно измененных тканях [11–13].

Описанные в нашем исследовании изменения в распределении маркера NK1 в тканях разного типа полипов и в СО нижних носовых раковин свидетельствуют

о причастности нейрокининовой системы к развитию патологического процесса. Уменьшение его активности в стенках кровеносных сосудов и нарастание NK1 в клеточных элементах лимфоидных инфильтратов, кровяного и железистого эпителия можно рассматривать как предпосылки к развитию пролиферативного процесса и активации сигнальных каскадов, поступающих через мембрану клеток однослойного многорядного мерцательного эпителия. Индуцируемое нейрокининами увеличение секреции в железах, повышение сосудистой проницаемости, экстравазация плазмы крови и развитие нейрогенного воспаления могут способствовать прогрессированию отечных и воспалительных изменений в СО полости носа [11, 13, 15].

При развитии ПРС наблюдается общая тенденция к увеличению содержания nNOS-позитивных клеточных элементов на фоне снижения активности маркера в нервных волокнах. Активность маркера обнаруживается в эндотелиоцитах кровеносных сосудов, клетках стромы и особенно выражена в субэпителиальной зоне. Известно, что NO может выступать в качестве координатора местных нейроиммунных механизмов ремоделирования СО полости носа, что, в свою очередь, и способствует усилению рецидивирования ПРС [9, 10, 14].

Наряду с этим настоящее исследование выявило значительное нарастание активности iNOS как в СО, так и в тканях полипов, что свидетельствует о том, что данный фермент играет важную роль в патогенезе ПРС. Секретируемый индуцибельной NOS оксид азота, повышая проницаемость сосудистой стенки, способен усиливать отек стромы, миграцию воспалительных клеток в строму СО и секрецию слизи в железах и бокаловидных клетках. Активация данных патогенетических факторов способствует образованию и рецидивизирующему течению ПРС [9, 10, 14].

Описанные выше изменения распределения активности IL1 $\beta$  свидетельствуют о том, что развитие ПРС вовлекает в воспалительный процесс всю СО полости носа, а также формирует предпосылки для прогрессирования или рецидива новых полипов в полости носа после хирургического лечения [3, 6, 12].

При подробной характеристике каждого типа ПРС можно проследить основные изменения в СО. В отечном типе полипа выявлено уменьшение активности SP в СО нижних носовых раковин и в самой ткани полипов, но значительно уменьшается влияние нейрокининовой системы на стенку кровеносных сосудов, такие изменения могут служить предпосылкой для рецидива ПРС [16]. Активность маркеров nNOS и iNOS в полипе отечного типа наблюдается в железистых, реснитчатых и бокаловидных эпителиоцитах и в клетках субэпителиальной зоны.

В развитии аллергического типа полипов высокая активность SP наблюдается в цитоплазме клеток воспалительных инфильтратов, но влияние нейрокининовой системы уменьшено и практически исчезает



в эпителии. Активность нейрональной NOS нарастает в стенке кровеносных сосудов, но уменьшается в нервных волокнах. При аллергическом типе полипов наблюдается повышенная активность iNOS, а также IL1 $\beta$  в цитоплазме клеток воспалительных инфильтратов собственной пластинки.

В полипах фиброзного типа активность SP уменьшена, но преобладает активность рецепторов NK1-позитивных клеточных элементов в составе воспалительных инфильтратов. Активность pNOS повышена в эпителиоцитах желез и небольшой популяции мононуклеарных клеток. Высокая активность iNOS регистрируется в субэпителиальной зоне полипов, стенке крупных кровеносных сосудов и железистых эпителиоцитах. Повышенная активность IL1 $\beta$  выявлена в цитоплазме клеток воспалительных инфильтратов.

### Заключение

Формирование полипозных изменений в полости носа неизменно сопровождается морфохимическими изменениями на участках слизистой оболочки полости носа. Развитию разных морфологических изменений в полипе сопутствует селективная перестройка на отдаленных участках слизистой оболочки носа. Изменения в слизистой оболочке нижних носовых раковин у пациентов с полипозным риносинуситом предрасполагают к развитию полипов разного морфологического типа.

Полученные данные свидетельствуют о наличии специфического сигнального микроокружения в СО носа, обеспечивающего особые условия для развития разных типов полипозного риносинусита.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Д.Г. Павлуш, И.В. Дюйзен.  
Сбор и обработка материала – Д.Г. Павлуш.  
Написание текста – Д.Г. Павлуш, И.В. Дюйзен.  
Редактирование – Д.Г. Павлуш, И.В. Дюйзен.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – D.G. Pavlush, I.V. Dyuzen.  
Collected the data and performed the analysis – D.G. Pavlush.  
Wrote the paper – D.G. Pavlush, I.V. Dyuzen.  
Edited the manuscript – D.G. Pavlush, I.V. Dyuzen.

### Литература/References

1. Павлуш Д.Г., Дюйзен И.В. Морфологическая характеристика различных типов полипозного риносинусита. Российская оториноларингология. 2019;18(1):76–82. DOI: 10.18692/1810-4800-2019-1-76-82.  
Pavlush DG, Dyuzen IV. Morphological characteristics of various types of polypous rhinosinusitis. Russian otorhinolaryngology. 2019;18(1):76–82 (In Russ.). DOI: 10.18692/1810-4800-2019-1-76-82.
2. Матвеева Н.Ю., Павлуш Д.Г., Калинин С.Г. Экспрессия про- и антиапоптотических молекул в слизистой оболочке полости носа при полипозном риносинусите. Вестник оториноларингологии. 2020;85(3):43–47. DOI: 10.17116/otorino20208503143.  
Matveeva NYu, Pavlush DG, Kalinichenko SG. Expression of pro- and anti-apoptotic molecules in the mucous membrane of the nasal cavity with polypous rhinosinusitis. Bulletin of otorhinolaryngology. 2020;85(3):43–47 (In Russ.). DOI: 10.17116/otorino20208503143.
3. Brescia G, Sfriso P, Marioni G. Role of blood inflammatory cells in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Acta Otolaryngol. 2019;139(1):48–51. DOI: 10.1080/00016489.2018.1538567.
4. Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C, Hellings PW, Kern R, Reitsma S et al. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2020. Rhinology. 2020;58(Suppl S29):1–464. DOI: 10.4193/Rhin20.600.
5. Malekzadeh S, McGuire JF. The new histologic classification of chronic rhinosinusitis. Curr Allergy Asthma Rep. 2003;3(3):221–6. DOI: 10.1007/s11882-003-0043-4.
6. Hulse KE, Stevens WW, Tan BK, Schleimer RP. Pathogenesis of nasal polyposis. Clin Exp Allergy. 2015;45(2):328–46. DOI: 10.1111/cea.12472.
7. Newton JR, Ah-See KW. A review of nasal polyposis. Ther Clin Risk Manag. 2008;4(2):507–12. DOI: 10.2147/tcrm.s2379.
8. Cannady SB, Batra PS, Leahy R, Citardi MJ, Janocha A, Ricci K et al. Signal transduction and oxidative processes in sinonasal polyposis. J Allergy Clin Immunol. 2007;120(6):1346–53. DOI: 10.1016/j.jaci.2007.07.067.
9. Degano B, Valmary S, Serrano E, Brousset P, Arnal J-F. Expression of nitric oxide synthases in primary ciliary dyskinesia. Hum Pathol. 2011;42(12):1855–61. DOI: 10.1016/j.humpath.2011.01.027.
10. Frendo M, Håkansson K, Schwer S, Ravn AT, Meteran H, Porsbjerg C et al. Exhaled and nasal nitric oxide in chronic rhinosinusitis patients with nasal polyps in primary care. Rhinology. 2018;56(1):59–64. DOI: 10.4193/Rhin17.111.
11. Lonergan A, Theoharides T, Tsilioni E, Rebeiz E. Substance P and Hemokinin 1 in nasal lavage fluid of patients with chronic sinusitis and nasal polyposis. OTO Open. 2019;3(3):2473974X19875076. DOI: 10.1177/2473974X19875076.
12. Tengroth L, Arebro J, Larsson O, Bachert C, Georén SK, Cardell L-O. Activation of Activin receptor-like kinases curbs mucosal inflammation and proliferation in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Sci Rep. 2018;8(1):1561. DOI: 10.1038/s41598-018-19955-1.
13. Canning BJ. Neurokinin3 receptor regulation of the airways. Vascul Pharmacol. 2006;45(4):227–34. DOI: 10.1016/j.vph.2005.08.031.
14. Sadek AA, Abdelwahab S, Eid SY, Almaimani RA, Althubiti MA, El-Readi MZ. Overexpression of inducible nitric oxide synthase in allergic and nonallergic nasal polyp. Oxid Med Cell Longev. 2019;2019:7506103. DOI: 10.1155/2019/7506103.
15. Mohamad S, Hamid SSA, Azlina A, Md Shukri N. Association of IL-1 gene polymorphisms with chronic rhinosinusitis with and without nasal polyp. Asia Pac Allergy. 2019;9(3):e22. DOI: 10.5415/apallergy.2019.9.e22.
16. Gurrola J, Borish L. Chronic rhinosinusitis: Endotypes, biomarkers, and treatment response. J Allergy Clin Immunol. 2017;140(6):1499–508. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.10.006.

### **Информация об авторах**

Дмитрий Георгиевич Павлуш – старший преподаватель кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии Тихоокеанского государственного медицинского университета.

Инесса Валерьевна Дюйзен – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией фармакологии Национального научного центра морской биологии ДВО РАН.

### **Author information**

Dmitry G. Pavlush – Senior Lecturer, Department of Histology, Embryology and Cytology, Pacific State Medical University.  
<https://orcid.org/0000-0003-4794-9777>

Inessa V. Dyuzen – Dr. Sci. (Med.), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Pharmacology, A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology.  
<https://orcid.org/0000-0002-9820-1112>