

УДК 611.1-002-006.5-003.2

<https://doi.org/10.18692/1810-4800-2021-4-33-42>

Активность нейрокининовой системы в слизистой оболочке полости носа при полипозном риносинусите

Д. Г. Павлуш¹, Е. А. Гиляфанов¹, А. И. Тютюнькова¹, В. Н. Оликан¹, А. В. Трофимова¹,
И. С. Севостьянова¹, Н. А. Горбач¹, В. Ж. Мизанова¹

¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет,
Приморский край, Владивосток, 690002, Россия

Neurokinin system activity of nasal cavity mucosa in rhinosinusitis with nasal polyps

D. G. Pavlush¹, E. A. Gilifanov¹, A. I. Tyutyun'kova¹, V. N. Olikyan¹, A. V. Trofimova¹,
I. S. Sevost'yanova¹, N. A. Gorbach¹, V. Zh. Mizanova¹

¹ Pacific State Medical University, Ministry of Health of Russia,
Primorsky Territory, Vladivostok, 690002, Russia

Проведено изучение изменения активности элементов нейрокининовой системы в тканях слизистой оболочки (СО) носа у пациентов с полипозным риносинуситом (ПРС). Объектом исследования был материал человека: полипы полости носа и участки слизистой нижних носовых раковин. Материал был получен у пациентов женского и мужского пола в возрасте от 30 до 75 лет, всего 70 человек (50 пациентов в группе исследования и 20 пациентов в группе контроля). Для решения поставленной задачи мы использовали иммуногистохимию для исследования локализации и распространения SP и NK1-позитивных элементов в полипах и СО носа. Установлено, что формирование полипозных изменений в полости носа сопровождается морфохимическими изменениями в участках СО нижних носовых раковин. При анализе активности SP в СО носа у контрольных пациентов и больных с полипами разных типов отмечается увеличение числа SP-позитивных нервных волокон и позитивных клеточных элементов воспалительных инфильтратов в тканях СО при аллергическом типе полипа. 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 разных морфологических типов может служить предпосылкой для разработки методов лечения данной патологии.

Ключевые слова: полипозный риносинусит, базальная мембрана, кисты, нейрокининовые рецепторы, вещество Р.

Для цитирования: Павлуш Д. Г., Гиляфанов Е. А., Тютюнькова А. И., Оликан В. Н., Трофимова А. В., Севостьянова И. С., Горбач Н. А., Мизанова В. Ж. Активность нейрокининовой системы в слизистой оболочке полости носа при полипозном риносинусите. *Российская оториноларингология*. 2021;20(4):33–42. <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2021-4-33-42>

A study of changes in the activity of elements of the neurokinin system in the tissues of the mucous membrane of the nose in patients with rhinosinusitis with nasal polyps was carried out. The object of the study was human material, polyps of the nasal cavity, and areas of the mucous membrane of the inferior turbinates. The material was obtained from female and male patients aged 30 to 75 years, a total of 70 people (50 patients in the study group and 20 patients in the control group). To solve this problem, we used immunohistochemistry to study the localization and distribution of SP (Substance undecaPeptide) and NK1 (neurokinin1)-positive elements in polyps and mucous membranes of the nose. It was found that the formation of polyposis changes in the nasal cavity is accompanied by morpho-chemical changes in the areas of the mucosa of the inferior turbinates. Analyzing the activity of SP in the nasal mucosa in control patients and patients with polyps of different types, an increase in the number of SP-positive nerve fibers and positive cellular elements of inflammatory infiltrates in the tissues of mucous membrane with an allergic type of polyp is noted. The features of the specific signaling microenvironment in the nasal cavity, providing special conditions for the formation of various types of polyposis changes, have been revealed. The specificity of the activity and distribution of markers of the inflammatory process in the tissues of polyps of different morphological types may serve as a prerequisite for the development of methods for treating this pathology.

Keywords: polypous rhinosinusitis, basement membrane, cysts, neurokinin receptors, substance P.

For citation: Pavlush D. G., Gilifanov E. A., Tyutyun'kova A. I., Olikyan V. N., Trofimova A. V., Sevost'yanova I. S., Gorbach N. A., Mizanova V. Zh. Neurokinin system activity of nasal cavity mucosa in rhinosinusitis with nasal polyps. *Rossiiskaya otorinolaringologiya*. 2021;20(4):33-42. <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2021-4-33-42>

Полипозный риносинусит (ПРС) является хроническим воспалительным заболеванием полости носа и околоносовых пазух. Встречается среди взрослого населения и составляет 1–5%. ПРС относится к полиэтиологическим заболеваниям, происхождение которых изучено не полностью. Поэтому дальнейшее изучение данного заболевания является приоритетом в научно-практических исследованиях в медицине, особенно в оториноларингологии [1–3].

В настоящее время описано, что развитие патологии органов дыхания протекает на фоне измененной активности нейрокининовой системы, клеточно-молекулярными исполнителями которых являются сенсорные нейропептиды (вещество P) и его рецепторы (нейрокининовые рецепторы типа 1, NK1) [4, 5].

Вещество P (SP) выделяется из чувствительных нервных окончаний. Кроме того, некоторые клеточные элементы иммунной системы (макрофаги, лимфоциты) способны секретировать данный медиатор. Вещество P стимулирует выработку слизи на всем протяжении дыхательных путей, является мощным активатором тучных клеток, вызывает их дегрануляцию и выделение гистамина, индуцирует хемотаксис моноцитов, нейтрофилов и эозинофилов, стимулирует макрофаги для производства медиаторов воспаления и цитокинов [5, 6]. Его рецепторы (нейрокининовые рецепторы типа 1, NK1) обнаруживаются на поверхности иммунопозитивных клеточных элементов в воспалительных инфильтратах, на эпителиоцитах, а также на эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов. Активация NK1-рецепторов сопровождается вазодилатацией, увеличением межтканевого отека в полости носа и приводит к увеличению сопротивления верхних дыхательных путей [4, 5].

Однако до настоящего времени для многих исследователей этиологическая и патогенетическая связь нейрокининовой системы с ПРС остается предметом дискуссий [3, 4].

Цель исследования

Изучение изменения активности элементов нейрокининовой системы в тканях слизистой оболочки (СО) носа у пациентов с ПРС. Для решения этой задачи методом иммуногистохимии мы исследовали локализацию SP и NK1-позитивных элементов в СО носа.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования был материал человека: полипы полости носа и участки слизистой

Rhinosinusitis with Nasal Polyps (RNP) is a chronic inflammatory disease of the nasal cavity and paranasal sinuses. Prevalence among the adult population is from 1-5%. RNP refers to polyetiological diseases, the origin of which is not fully understood. Therefore, further study of this disease is a priority in scientific and practical research in medicine, especially in otorhinolaryngology [1–3].

Currently, it is described that the development of respiratory pathology proceeds against the background of changed activity of the neurokinin system, the cellular and molecular effectors of which are sensory neuropeptides (substance P) and its receptors (neurokinin receptors type 1, NK1) [4, 5].

Substance P (SP) is secreted from sensory nerve endings. In addition, some cellular elements of the immune system (macrophages, lymphocytes) can secrete this mediator. Substance P stimulates mucus production throughout the respiratory tract, is a powerful activator of mast cells, causes their degranulation and the release of histamine induces chemotaxis of monocytes, neutrophils, and eosinophils, stimulates macrophages to produce inflammatory mediators and cytokines [5, 6]. Its receptors (neurokinin receptors type 1, NK1) are found on the surface of immunopositive cellular elements in inflammatory infiltrates, on epithelial cells, as well as on endothelial and vascular smooth muscle cells. Activation of NK1 receptors is accompanied by vasodilation, an increase in interstitial edema in the nasal cavity and leads to an increase in the resistance of the upper airways [4, 5].

However, until now, many researchers of the etiological and pathogenetic relationship of the neurokinin system with RNP remain a subject of discussion [3, 4].

Objectives

Study of changes in the activity of elements of the neurokinin system in the tissues of the nasal mucosa (NM) in patients with RNP. To solve this problem by immunohistochemistry, we investigated the localization of SP and NK1-positive elements in the nasal mucosa.

Materials and methods

The object of the study was human material, polyps of the nasal cavity, and areas of the mucous

нижних носовых раковин. Материал был получен у пациентов женского и мужского пола в возрасте от 30 до 75 лет, всего 70 человек (50 пациентов в группе исследования и 20 пациентов в группе контроля).

Критерии включения: группа исследования представлена пациентами с клинически верифицированным диагнозом ПРС, без сопутствующей воспалительной (гнойный верхнечелюстной риносинусит) и аллергической (аллергический ринит, бронхиальная астма, аспириновая триада) патологии.

Группа контроля представлена пациентами без полипозной и сопутствующей воспалительной и аллергической патологии СО, которым была выполнена операция риносептопластика. Участки удаленной в ходе операции СО носа использовались для сравнительной характеристики морфологических изменений.

Включение пациентов в исследуемую и контрольную группы осуществлялось при наличии документального согласия пациентов и последующей госпитализации в оториноларингологическое отделение Владивостокской клинической больницы № 1. Всем пациентам проведено полное клиническое предоперационное обследование. На проведение исследования получено одобрение Междисциплинарного комитета по этике Тихоокеанского государственного медицинского университета (протокол № 4 от 15 декабря 2014 г.).

Полученный материал: кусочки полипов полости носа и участки СО нижних носовых раковин – фиксировали в 4%-ном растворе забуференного параформальдегида, заливали в парафин. Из полученного материала после заливки проводилось изготовление гистологических препаратов (7 мкм толщиной на ротационном микротоме фирмы Leica, ФРГ), которые окрашивали гематоксилином и эозином, а также с помощью стандартного иммунопероксидазного метода выявляли локализацию следующих маркеров: вещество Р (SP) – производитель Abcam США ab14184, источник моноклональных антител мышь, разведение 1 : 500; нейрокининовый рецептор 1-го типа (NK1) – производитель Chemicon, США, AB 5060, источник моноклональных антител мышь, разведение 1 : 500.

Вторичные антитела, меченные пероксидазой хрена [PI-1000 (anti-mouse), США, 1:100], были получены от фирмы Vector Laboratories и использовались в соответствии с инструкциями фирмы производителя.

Просмотр и фотографирование микропрепаратов осуществляли на световом микроскопе AxioScopeA1 (Carl Zeiss). Морфометрическую оценку проводили с использованием программы ImageJ 4.0. Для каждого маркера подсчитывали

membrane of the inferior turbinates. The material was obtained from female and male patients aged 30 to 75 years, a total of 70 people (50 patients in the study group and 20 patients in the control group).

Inclusion criteria, the study group was represented by patients with a clinically verified diagnosis of RNP, without concomitant inflammatory (purulent maxillary rhinosinusitis) and allergic pathology (allergic rhinitis, bronchial asthma, aspirin-exacerbated respiratory disease (AERD)).

The control group was represented by patients without polyposis and concomitant inflammatory and allergic pathology of the nasal mucosa, who underwent rhinoseptoplasty. Areas of the nasal mucosa removed during the operation were used for comparative characteristics of morphological changes.

The inclusion of patients in the study and control group was carried out with the patient's documentary consent and subsequent hospitalization in the otorhinolaryngology department of the Vladivostok Clinical Hospital No. 1. All patients underwent a complete clinical preoperative examination. The study was approved by the Interdisciplinary Ethics Committee of the Pacific State Medical University (Protocol No. 4 of December 15, 2014).

The obtained material, pieces of nasal cavity polyps, and sections of the nasal mucosa of the inferior turbinates were fixed in a 4% solution of buffered paraformaldehyde and embedded in paraffin. From the material obtained after embedding, histological preparations (7 μ m thick on a rotary microtome of Leica, Germany) were prepared, which were stained with hematoxylin and eosin, and the localization of the following markers was revealed using the standard immunoperoxidase method: substance P (SP) – manufacturer Abcam USA ab14184, source of monoclonal antibodies mouse, dilution 1:500; neurokinin type 1 receptor (NK1) – manufacturer Chemicon, USA, AB 5060, source of monoclonal antibodies mouse, dilution 1:500.

Horseradish peroxidase-labeled secondary antibodies with (PI-1000 (anti-mouse), USA, 1:100) were obtained from Vector Laboratories and were used according to the manufacturer's instructions.

The microscope slides were viewed and photographed using an AxioScopeA1 light microscope (Carl Zeiss). The morphometric assessment was performed using the ImageJ 4.0 software. For each marker, the specific density of immunopositive

удельную плотность иммунопозитивных структур (% иммунопозитивной зоны по отношению к объему ткани) и удельную плотность распределения иммунопозитивных элементов.

Статистическая обработка материалов производилась с помощью программного обеспечения Statistica 10 (StatSoft, Inc., США) и Excel (Microsoft Office 2010) в среде операционной системы Windows 7. В сравниваемых группах производилась оценка $M \pm SD$, где M – среднее, а SD – стандартное отклонение. Для оценки значимости полученных результатов применяли t-критерий Стьюдента, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования

На основании гистологической картины предложено несколько классификаций ПРС. По особенностям морфологического строения подразделяют на 4 типа: 1) отежные, эозинофильные («аллергические»); 2) фиброзно-воспалительные (нейтрофильные); 3) железистые (с выраженной гиперплазией серозно-слизистых желез); 4) с атипией стромы (редко встречаемый тип, важно проводить дифференцировку с опухолями) [7, 8].

Возможны комбинации этих гистологических вариантов, которые могут присутствовать в пределах одного патологического процесса в полости носа, а также у пациентов с множественными полипами в полости носа.

В настоящее время общепринятой классификации самого ПРС не существует. Ни один из общепринятых вариантов не используется в клинической практике [7, 8].

В нашем исследовании предложена собственная гистологическая классификация в связи с особенностью морфологических изменений в ткани СО при ПРС, мы разделили на следующие типы: 1) отежные (простые); 2) аллергические (эозинофильные); 3) фиброзные (фиброзно-сосудистые, фиброзно-кистозные, фиброзно-железистые) [9].

Отежный (простой) тип полипа, гистологические признаки: отежная ткань полипа, небольшое число фибробластов и соединительнотканых волокон. В собственной пластинке очагами располагаются участки воспалительной инфильтрации, концентрируясь вокруг сосудов и в субэпителиальном слое. Эпителий сохраняет признаки респираторного типа, со значительным числом бокаловидных клеток. Отежный тип полипа часто бывает двусторонним.

Аллергический (эозинофильный) тип полипа, гистологические признаки, отличающие данный тип полипа: наличие инфильтратов с большим числом эозинофилов, наряду с моноцитами и тучными клетками. Отмечается трансформация многорядного мерцательного эпителия в многослойный плоский. Ткань полипов данного типа

structures (% of the immunopositive zone concerning the tissue volume) and the specific distribution density of immunopositive elements were calculated.

Statistical processing of materials was carried out using the software STATISTICA 10 (StatSoft, Inc., USA) and Excel (Microsoft Office 2010) in the Windows 7 operating system. In the compared groups, the assessment was made $M \pm SD$, where M is the mean, and SD is the standard deviation. To assess the significance of the results obtained, Student's t-test was used, the differences were considered significant at $p < 0.05$.

Research results

Based on the histological picture, several classifications of RNP have been proposed. According to the peculiarities of the morphological structure, they are divided into 4 types: 1) edematous, eosinophilic («allergic»); 2) fibroinflammatory (neutrophilic); 3) glandular (with severe hyperplasia of the serous-mucous glands); 4) with atypia of the stroma (a rare type, it is important to differentiate with tumors) [7, 8].

Combinations of these histological variants are possible, which may be present within the same pathological process in the nasal cavity, as well as in patients with multiple polyps in the nasal cavity.

Currently, the standard classification of the RNP doesn't exist. None of the generally accepted options is used in clinical practice [7, 8].

In our study, we proposed our histological classification in connection with the peculiarity of morphological changes in the tissue of SD in ORS, we divided it into the following types: 1) edematous (simple); 2) allergic (eosinophilic); 3) fibrous (fibrovascular, fibro-cystic, fibro-glandular) [9].

Edematous (simple) type of polyp, histological signs: edematous polyp tissue, a small number of fibroblasts, and connective tissue fibers. In the lamina propria, areas of inflammatory infiltration are located as foci, concentrating around the vessels and in the subepithelial layer. The epithelium retains the features of the respiratory type, with a significant number of goblet cells. The edematous type of polyp is often bilateral.

Allergic (eosinophilic) type of polyp, histological signs that distinguish this type of polyp – the presence of infiltrates with a large number of eosinophils, along with monocytes and mast cells. The transformation of the multi-row ciliated epithelium into a stratified squamous epithelium is noted. The tissue of this type of polyps is made of

выполнена рыхлой волокнистой тканью с небольшим количеством кровеносных сосудов.

Фиброзные (фиброзно-сосудистые, фиброзно-кистозные, фиброзно-железистые) типы полипов представляют наиболее разнообразную группу. Гистологические признаки: собственная пластинка имеет компактное строение, с большим числом фибробластов и окружающих их соединительнотканых волокон. Иногда встречаются участки фиброза. В собственной пластинке в большом числе присутствуют профили сосудов разного калибра. Особого внимания заслуживают структуры, напоминающие концевые отделы и выводные протоки желез, а также кистозные образования, заполненные тканевым детритом. Воспалительные клеточные инфильтраты интенсивные, располагаются периваскулярно и в субэпителиальной зоне, с многочисленными воспалительными полиморфно-ядерными инфильтратами, ядра клеток сегментированы. Эпителий с участками десквамации и пролиферации, а также прослеживается трансформация в многослойный плоский, наблюдается местами «оголение» базальной мембраны.

В СО носа контрольных пациентов вещество Р локализуется в тканевых элементах всех слоев, но преобладает в эпителиоцитах концевых отделов и выводных протоков желез (табл. 1), в нервных волокнах, оплетающих кровеносные сосуды и железы (рис. 1).

Наличие в носовой полости полипозных изменений находит свое отражение в распределении данного маркера в СО нижних носовых раковин. Формирование полипоза любого морфологического типа сопровождается увеличением площади иммуногистохимического окрашивания на SP в подслизистой основе, соединительнотканых слоях СО (рис. 2), при этом в эпителии окрашивание практически отсутствует (табл. 2).

В СО при развитии полипов аллергического типа активность SP нарастает за счет значительного увеличения содержания маркера в нервных волокнах.

Обращает на себя внимание высокая активность SP в цитоплазме клеток воспалительных инфильтратов, при этом максимальное число иммунопозитивных клеточных элементов демонстрируют ткани полипов аллергического типа. Характерной чертой полипов данного типа является содержание маркера в клеточных элементах стенок кровеносных сосудов. В полипах аллергического типа, наряду с описанными изменениями, наличие маркера наблюдается в апикальной порции покровного эпителия.

Рецепторы к веществу Р (NK1-рецепторы) в СО полости носа контрольных пациентов обнаружены в подслизистой основе, где преимущественно маркируют элементы стенок сосудов,

loose fibrous tissue with a small number of blood vessels.

Fibrous (fibro-vascular, fibro-cystic, fibro-glandular) types of polyps represent the most diverse group. Histological signs: the lamina propria has a compact structure, with a large number of fibroblasts and surrounding connective tissue fibers. Sometimes there are areas of fibrosis. The lamina propria contains a large number of profiles of vessels of various sizes. Particularly noteworthy are structures that resemble the end sections and excretory ducts of the glands, as well as cystic formations filled with tissue detritus. Inflammatory cellular infiltrates are intense, located perivascular and in the subepithelial zone, with numerous inflammatory polymorphonuclear infiltrates, the cell nuclei are segmented. The epithelium has areas of desquamation and proliferation, as well as the transformation into a stratified squamous epithelium, there is observed in some places «exposure» of the basement membrane.

In the nasal mucosa of the control patients, substance P is localized in the tissue elements of all layers, but predominates in the epithelial cells of the adenomeres and excretory ducts of glands (Table 1), in the nerve fibers that intertwine the blood vessels and glands (Fig. 1).

The presence of polyposis changes in the nasal cavity is reflected in the distribution of this marker in the mucosa of the inferior turbinates. Formation of polyposis of any morphological type is accompanied by an increase in the area of immunohistochemical staining for SP in the submucosa, connective tissue layers of mucosa (Fig. 2), while staining is practically absent in the epithelium (Table 2).

In mucosa, during the development of polyps of the allergic type, the SP activity increases due to a significant increase in the content of the marker in the nerve fibers.

Noteworthy is the high activity of SP in the cytoplasm of cells of inflammatory infiltrates, while the maximum number of immunopositive cellular elements is demonstrated by tissues of polyps of the allergic type. A characteristic feature of this type of polyps is the content of the marker in the cellular elements of the blood vessel walls. In polyps of the allergic type, along with the described changes, the presence of a marker is observed in the apical portion of the surface epithelium.

Receptors for substance P (NK1 receptors) in the nasal cavity of control patients were found in the submucosa, where the elements of the vessel walls, excretory ducts, and end sections of the glands

Таблица 1
Сравнительная характеристика слизистой оболочки полости носа (контроль)
и слизистой пациентов при ПРС ($M \pm SD$)

Table 1

Comparative characteristics of the mucous membrane of the nasal cavity (control)
and the mucous membrane of patients with PRS ($M \pm SD$)

Иммуногистохимический маркер [Immunohistochemical marker]	Слизистая оболочка при разных типах ПРС [Mucous membrane with different types of PRS]		
	Морфологический тип полипа [Morphological type of polyp]	Эпителий [Epithelium]	Подслизистая основа [Submucosa]
SP	Отечный [Edematous], $n = 32$	–	–
	Аллергический [Allergic], $n = 12$	–	$4,18 \pm 2,61^*$
	Фиброзный [Fibrous], $n = 6$	–	$9,49 \pm 0,47^*$
	Контроль [Control], $n = 20$	$1,83 \pm 0,05$	$2,96 \pm 0,05$
NK1	Отечный [Edematous], $n = 32$	–	$7,12 \pm 1,32$
	Аллергический [Allergic], $n = 12$	–	$18,01 \pm 3,17^*$
	Фиброзный [Fibrous], $n = 6$	–	$10,14 \pm 2,17$
	Контроль [Control], $n = 20$	$1,41 \pm 0,28$	$12,22 \pm 3,24$

* Отличие от значения соответствующего показателя контрольной группы статистически значимо при $p < 0,05$.
* The difference from the value of the corresponding indicator of the control group is statistically significant at $p < 0,05$.

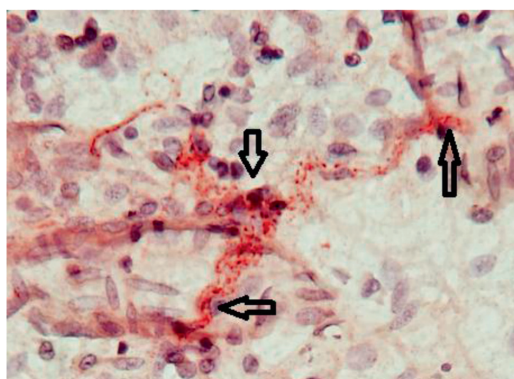


Рис. 1. Распределение активности вещества Р. Аfferентные нервные волокна (стрелки) в слизистой оболочке носа контрольной группы. Иммунопероксидазная реакция на SP, докрашены гематоксилином. $\times 50$

Fig. 1. Distribution of the activity of substance P. Afferent nerve fibers (arrows) in the nasal mucosa of the control group. Immunoperoxidase reaction to SP, counterstained with hematoxylin. $\times 50$

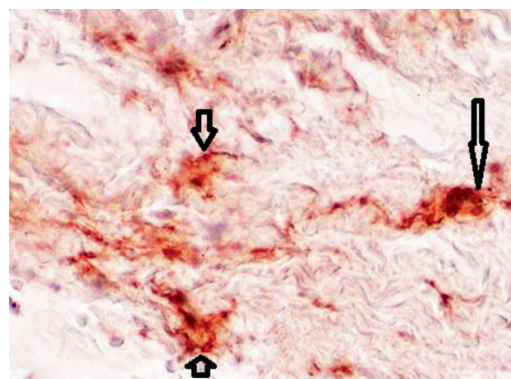


Рис. 2. Распределение активности вещества Р. Аfferентные нервные волокна (стрелки) в подслизистой основе при полипах аллергического типа. Иммунопероксидазная реакция на SP. $\times 50$

Fig. 2. Distribution of the activity of substance P. Afferent nerve fibers (arrows) in the submucosa in allergic polyps. Immunoperoxidase reaction to SP. $\times 50$

Таблица 2
Сравнительная характеристика маркеров в полипозно-измененных тканях при полипозном
риносинусите ($M \pm SD$)

Table 2

Comparative characteristics of markers in polypoid altered tissues with polypoid rhinosinusitis ($M \pm SD$)

Маркер [Marker]	Тканевые элементы полипа [Polyp tissue elements]	Отечный тип полипа [Edematous type of polyp], $n = 32$	Аллергический тип полипа [Allergic type of polyp], $n = 12$	Фиброзный тип полипа [Fibrous type of polyp], $n = 6$
SP	Эпителий [Epithelium]	–	$3,73 \pm 0,01^*$	–
	Собственная пластинка [Own plate]	–	$9,51 \pm 2,67^*$	$6,48 \pm 1,33^*$
	Иммунопозитивные элементы воспалительных инфильтратов [Immunopositive elements of inflammatory infiltrates]	$35,32 \pm 11,5$	$40,48 \pm 13,3$	$28,13 \pm 2,1$
NK1	Эпителий [Epithelium]	$3,13 \pm 1,37^*$	$10,67 \pm 2,56^*$	$16,31 \pm 5,3^*$
	Собственная пластинка [Own plate]	$2,41 \pm 0,53^*$	$6,89 \pm 2,66$	$9,41 \pm 2,91^*$
	Иммунопозитивные элементы воспалительных инфильтратов [Immunopositive elements of inflammatory infiltrates]	$22,93 \pm 2,5$	$28,67 \pm 4,20$	$26,01 \pm 4,18$

* Отличие от значения соответствующего показателя контрольной группы статистически значимо при $p < 0,05$.
[* The difference from the value of the corresponding indicator of the control group is statistically significant at $p < 0,05$.]

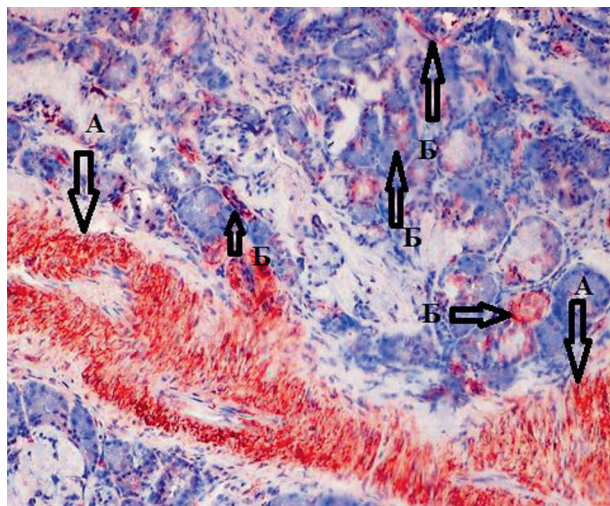


Рис. 3. Распределение активности нейрокининовых рецепторов NK1. Слизистая оболочка. Контроль. NK1-рецепторы сосредоточены на гладкомышечных клетках кровеносных сосудов (стрелки А), на мембране эпителиоцитов выводных протоков желез (стрелки Б). Иммунопероксидазная реакция на NK1, докрашен гематоксилином. $\times 100$

Fig. 3. Distribution of activity of neurokinin receptors NK1. Mucous membrane. Control. NK1 receptors are concentrated on smooth muscle cells of blood vessels (arrows A), on the epithelial membrane of the excretory ducts of the glands (arrows B). Immunoperoxidase reaction to NK1, counterstained with hematoxylin. $\times 100$

выводные протоки и концевые отделы желез. Высокая концентрация NK1-рецепторов сосредоточена на гладкомышечных клетках крупных кровеносных сосудов, на мембране эпителиоцитов, выстилающих выводные протоки, и в меньшей степени – на сероцитах подслизистых желез и эпителии (рис. 3).

В СО носа при развитии ПРС распределение данного маркера меняется. В случае аллергического типа полипов активность NK1 преимущественно определяется в структуре желез, а в гладкомышечных элементах стенок сосудов уменьшается (по сравнению с контролем) и практически исчезает в эпителии. При полипах отеочного типа в СО регистрируются значительное увеличение содержания NK1 в гладкомышечных элементах сосудистой стенки и уменьшение активности маркера в glanduloцитах желез. В СО носа при фиброзном типе полипов NK1 распределен в стенке сосудов и железах.

В тканях полипов в распределении данного маркера наблюдается следующая общая тенденция: активность NK1 в эпителии значительно возрастает, а его распределение в собственной пластинке уменьшается (по сравнению с показателями контрольной СО). Из всех исследованных образцов в полипах отеочного типа обнаруживается наименьшее содержание данного маркера, а ткани полипа фиброзного типа, напротив, характеризуются максимальной активностью данного

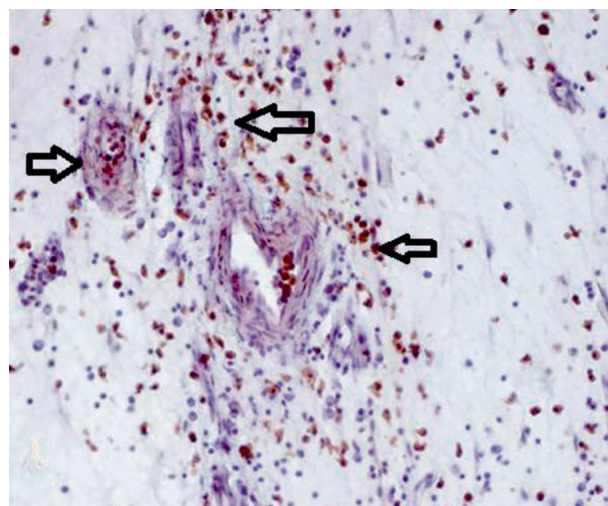


Рис. 4. Распределение активности нейрокининовых рецепторов NK1. Полип аллергического типа. Преобладание NK1-позитивных клеточных элементов на мембране клеток воспалительных инфильтратов (стрелки). Иммунопероксидазная реакция на NK1, докрашен гематоксилином. $\times 100$

Fig. 4. Distribution of activity of neurokinin receptors NK1. – polyp of an allergic type. The predominance of NK1-positive cellular elements on the cell membrane of inflammatory infiltrates (arrows). Immunoperoxidase reaction to NK1, counterstained with hematoxylin. $\times 100$

are mainly marked. A high concentration of NK1 receptors is concentrated on the smooth muscle cells of large blood vessels, on the membrane of epithelial cells lining the excretory ducts, and, to a lesser extent, on serous cells of the submucous glands and epithelium (Fig. 3).

In the nasal mucosa, the distribution of this marker changes with the development of RNP. In the case of an allergic type of polyps, NK1 activity is predominantly determined in the structure of the glands, while in the smooth muscle elements of the vascular walls it decreases (compared to the control) and practically disappears in the epithelium. With polyps of the edematous type, a significant increase in the content of NK1 in the smooth muscle elements of the vascular wall and a decrease in the activity of the marker in the gland cells of the glands are recorded in the mucosa. In the nasal mucosa with the fibrous type of polyps, NK1 is distributed in the wall of blood vessels and glands.

In polyp tissues, the following general trend is observed in the distribution of this marker – the activity of NK1 in the epithelium increases significantly, and its distribution in the lamina propria decreases (in comparison with the values of the control mucosa). Of all the samples examined, the lowest content of this marker is found in polyps of the edematous type, while the tissue of the fibrous type polyp, on the contrary, is characterized by the maximum activity of this marker in the epithelium.

маркера в эпителии. Важным отличием полипов аллергического и фиброзного типа является преобладание NK1-позитивных клеточных элементов в составе воспалительных инфильтратов (рис. 4).

Обсуждение полученных результатов

При проведении общеморфологических и иммуногистохимических методов исследования дана детальная характеристика тканевого распределения и активности компонентов нейрокининовой системы (вещество Р и его рецептор NK1).

Данное исследование показало, что SP-иммунореактивные элементы широко распространены в эпителии, железах и в стенках сосудов, как в СО носа, так и в ткани полипов. При сравнении активности SP в СО носа у контрольных пациентов и больных с полипами разных типов отмечается увеличение числа SP-позитивных нервных волокон и позитивных клеточных элементов воспалительных инфильтратов в тканях СО при аллергическом типе полипа. Повышенная активность SP способствует ремоделированию ткани СО носа и провоцирует процесс полипобразования, который поддерживается воспалением [1, 4, 5, 10]. Подтверждением тому является большое количество SP-позитивных клеточных элементов в составе воспалительных инфильтратов, наблюдаемых в полипозно-измененных тканях.

Описанные в нашем исследовании изменения в распределении маркера NK1 в тканях разных типов полипов и в СО нижних носовых раковин свидетельствуют о причастности нейрокининовой системы СО к развитию патологического процесса. Уменьшение его активности в стенках кровеносных сосудов и нарастание NK1 в клеточных элементах лимфоидных инфильтратов, покровного и железистого эпителия можно рассматривать как предпосылки к развитию пролиферативного процесса и активации сигнальных каскадов, поступающих через мембрану эпителиоцитов. 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 [5, 10–12].

Заключение

Полученные нами данные свидетельствуют, что развитие полипоза отечного типа происходит на фоне уменьшения активности SP как в слизистой оболочке, так и в тканях полипов. При этом типе полипа значительно уменьшается влияние нейрокининовой системы на стенку кровеносных сосудов.

An important difference between allergic and fibrous polyps is the predominance of NK1-positive cellular elements in the composition of inflammatory infiltrates (Fig. 4).

Discussion of the results

When carrying out general morphological and immunohistochemical methods of research, a detailed description of the tissue distribution and activity of the components of the neurokinin system (substance P and its NK1 receptor) is given.

This study has shown that SP-immunoreactive elements are widely distributed in the epithelium, glands, and the walls of blood vessels, both in the nasal mucosa and polyp tissue. When comparing the activity of SP in the nasal mucosa in control patients and patients with polyps of different types, an increase in the number of SP-positive nerve fibers and positive cellular elements of inflammatory infiltrates in the mucosal tissues with an allergic type of polyp is noted. Increased SP activity promotes remodeling of the tissue of nasal mucosa and provokes the process of polypogenesis, which is supported by inflammation [1, 4, 5, 10]. This is confirmed by a large number of SP-positive cellular elements in the inflammatory infiltrates observed in polyposis-altered tissues.

The changes in the distribution of the NK1 marker described in our study in the tissues of different types of polyps and the mucosa of the inferior turbinates indicate the involvement of the neurokinin system of the mucosa in the development of the pathological process. A decrease in its activity in the walls of blood vessels and an increase in NK1 in the cellular elements of lymphoid infiltrates, surface, and glandular epithelium can be considered as prerequisites for the development of a proliferative process and activation of signaling cascades entering through the membrane of epithelial cells. An increase in glandular secretion induced by neurokinins, an increase in vascular permeability, extravasation of blood plasma, and the development of neurogenic inflammation can contribute to the progression of edematous and inflammatory changes in the nasal mucosa [5, 10–12].

Conclusion

Our data indicate that the development of edematous polyposis occurs against the background of a decrease in SP activity both in the mucous membrane and in the tissues of the polyps. With this type of polyp, the effect of the neurokinin system on the blood vessel wall is significantly reduced.

В развитии аллергического типа полипов высокая активность SP наблюдается в цитоплазме клеток воспалительных инфильтратов, при этом влияние нейрокининовой системы уменьшено и практически отсутствует в эпителии.

В полипах фиброзного типа активность SP уменьшена, но при этом преобладает активность рецептор-NK1-позитивных клеточных элементов в составе воспалительных инфильтратов.

Полученные данные свидетельствуют о наличии специфического сигнального микроокружения в СО носа, обеспечивающего особые условия для развития разных типов ПРС. Специфика активности и распределения маркеров воспалительного процесса в тканях полипов может служить предпосылкой для разработки методов терапии данной патологии.

Исследование одобрено Междисциплинарным комитетом по этике ТГМУ (протокол № 4 от 15.12.2014 г.).

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

In the development of the allergic type of polyps, high SP activity is observed in the cytoplasm of inflammatory infiltrates cells, while the effect of the neurokinin system is reduced and is practically absent in the epithelium.

In polyps of the fibrous type, the activity of SP is reduced, but the activity of the receptor for NK1-positive cellular elements in the composition of inflammatory infiltrates predominates.

The data obtained indicate the presence of a specific signaling microenvironment in the nasal mucosa, which provides special conditions for the development of different types of RNP. The specificity of the activity and distribution of markers of the inflammatory process in polyp tissues may serve as a prerequisite for the development of methods of therapy for this pathology.

The study was approved by the Interdisciplinary Ethics Committee of the Pacific State Medical University (Protocol No. 4 of December 15, 2014).

The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. McHugh T., Levin M., Snidvongs K., Banglawala S. M., Sommer D. D. Comorbidities Associated with Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis: Systematic Review & Meta-Analysis. *Clinical Otolaryngology*. 2020;00:1-10. <https://doi.org/10.1111/coa.13536>
2. Lourijsen E. S., Borgie C. A. M., Vleming M., Fokkens W. J. Endoscopic sinus surgery in adult patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps (PolypESS): study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*. 2017;18:39. doi: 10.1186/s13063-016-1728-z
3. Hulse K. E., Stevens W. W., Tan B. K., Schleimer R. P. Pathogenesis of nasal polyposis. *Clin. Exp. Allergy*. 2015. Feb; 45(2):328-46. doi: 10.1111/cea.12472
4. 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; Sep 12;3(3):2473974X19875076. doi: 10.1177/2473974X19875076
5. Canning B.J. Neurokinin3 receptor regulation of the airways. *Vascul Pharmacol*. 2006 Oct; 45(4):227-234. doi: 10.1016/j.vph.2005.08.031
6. Павлуш Д. Г., Павлуш Е. Н., Матвеева Н. Ю., Калиниченко С. Г., Дюйзен И. В. Хронический полипозный риносинусит: этиопатогенетические механизмы его возникновения. *Медицина*. 2018;2:69–78 [Pavlush D. G., Pavlush E. N., Matveeva N. Yu., Kalinichenko S. G., Dyujzen I. V. Chronic polyposis rhinosinusitis: etiopathogenetic mechanisms of its occurrence. *Medicina*. 2018; 2: 69–78. (In Russ.)] doi: 10.29234/2308-9113-2018-6-69-7
7. Клинические рекомендации (КР316). Полипозный риносинусит. (Утв. Минздравом РФ. 2016) [Clinical guidelines (KР316). Polypoid rhinosinusitis. (approved by the Ministry of Health. RF. 2016). (In Russ.)] http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_326617/
8. Malekzadeh S., McGuire J. F. The New Histologic classification of chronic rhinosinusitis. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2003;3:221-226. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12662471>
9. Павлуш Д. Г., Дюйзен И. В. Морфологическая характеристика различных типов полипозного риносинусита. *Российская оториноларингология*. 2019;1:76–82 [Pavlush D. G., Dyujzen I. V. Morphological characteristics of various types of polypous rhinosinusitis. *Rossiiskaya otorinolaringologiya*. 2019;18(1):76-82. (In Russ.)] <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2019-1-76-82>
10. Kowalik K., Waniewska-Leczycka M., Sarnowska E., Rusetska N., Sierdzinski J., Zagor M. Role of chromatin remodeling complex SWI/SNF and VDR in chronic rhinosinusitis. *Adv Clin Exp Med*. 2020;29(3):313-323.DOI:10.17219/acem/117683
11. Tecimer H. S., Kasapoglu F., Demir U. L., Ozmen O. A., Coskun H., Basut O. Correlation between clinical findings and eosinophil/neutrophil ratio in patients with nasal polyps. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2015;272:915-921. doi: 10.1007/s00405-014-3174-4
12. Гилянфанов Е. А., Невзорова В. А., Артюшкин С. А., Павлуш Д. Г. Клинико-функциональная характеристика органов речи и слуха у пациентов со стабильным течением хронической болезнью легких. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2014;(1):45–47 [Gilifanov E. A., Nevzorova V. A., Artyushkin S. A., Pavlush D. G. Clinical

and functional characteristics of the speech and hearing organs of the patients having the stable chronic obstructive pulmonary disease. *Pacific Medical Journal*. 2014;(1):45-47 (In Russ.)] <https://www.tmj-vgmu.ru/jour/article/view/717>

Информация об авторах

✉ **Павлуш Дмитрий Георгиевич** – ассистент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, Россия, Приморский край, Владивосток, ул. Острякова, д. 2); e-mail: pavlush.dmitrij@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4794-9777>

Гилифанов Евгений Альбертович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры офтальмологии и оториноларингологии, Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, Россия, Приморский край, Владивосток, ул. Острякова, д. 2); e-mail: gilifanov@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5066-3844>

Тютюнькова Александра Игоревна – ординатор, кафедра офтальмологии и оториноларингологии, Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, Россия, Приморский край, Владивосток, ул. Острякова, д. 2); e-mail: Sanechka1494@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0654-700X>

Оликан Вардуи Норайровна – ординатор, кафедра офтальмологии и оториноларингологии, Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, Россия, Приморский край, Владивосток, ул. Острякова, д. 2); e-mail: iskaganvardui@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0087-9329>

Трофимова Анна Валерьевна – ординатор, кафедра офтальмологии и оториноларингологии, Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, Россия, Приморский край, Владивосток, ул. Острякова, д. 2); e-mail: anutikk15@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5137-581X>

Севостьянова Ирина Сергеевна – ординатор, кафедра офтальмологии и оториноларингологии, Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, Россия, Приморский край, Владивосток, ул. Острякова, д. 2); e-mail: Student.irinka@list.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3410-6105>

Горбач Наталья Александровна – ординатор, кафедра офтальмологии и оториноларингологии, Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, Россия, Приморский край, Владивосток, ул. Острякова, д. 2); e-mail: War_blair@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5720-2402>

Мизанова Вероника Журабековна – ординатор, кафедра офтальмологии и оториноларингологии, Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, Россия, Приморский край, Владивосток, ул. Острякова, д. 2); e-mail: mizanova969@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7023-4046>

Information about authors

✉ **Dmitrii G. Pavlush** – Assistant of the Department of Histology, Embryology and Cytology, Pacific State Medical University (2, Ostryakova St., Vladivostok, Primorsky Territory, Russia, 690002); e-mail: pavlush.dmitrij@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4794-9777>

Evgenii A. Gilifanov – MD Candidate, Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, Pacific State Medical University (2, Ostryakova St., Vladivostok, Primorsky Territory, Russia, 690002); e-mail: gilifanov@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5066-3844>

Aleksandra I. Tyutyun'kova – Resident, Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, Pacific State Medical University (2, Ostryakova St., Vladivostok, Primorsky Territory, Russia, 690002); e-mail: Sanechka1494@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0654-700X>

Vardui N. Olikyan – Resident, Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, Pacific State Medical University (2, Ostryakova St., Vladivostok, Primorsky Territory, Russia, 690002); e-mail: iskaganvardui@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0087-9329>

Anna V. Trofimova – Resident, Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, Pacific State Medical University (2, Ostryakova St., Vladivostok, Primorsky Territory, Russia, 690002); tel.: 8 (914) 661-99-06. e-mail: anutikk15@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5137-581X>

Irina S. Sevost'yanova – Resident, Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, Pacific State Medical University (2, Ostryakova St., Vladivostok, Primorsky Territory, Russia, 690002); e-mail: Student.irinka@list.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3410-6105>

Natal'ya A. Gorbach – Resident, Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, Pacific State Medical University (2, Ostryakova St., Vladivostok, Primorsky Territory, Russia, 690002); tel.: 8 (914) 672-29-06. e-mail: War_blair@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5720-2402>

Veronika Zh. Mizanova – Resident, Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, Pacific State Medical University (2, Ostryakova St., Vladivostok, Primorsky Territory, Russia, 690002); e-mail: mizanova969@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7023-4046>