

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК [616.98:578.825].13 (048.8)  
© Н.А. Суздальцева, Т.В. Суздальцева, 2021

### Н.А. Суздальцева<sup>1</sup>, Т.В. Суздальцева<sup>2</sup> ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ БЕЛКОВ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА–БАРРА В КЛЕТКАХ ПОЛИПОВ НОСА

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Уфа

<sup>2</sup>АО «Лечебно-диагностический центр иммунологии и аллергологии», г. Самара

Учитывая широкую распространенность инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барра (ВЭБ), и способность данного вируса поражать клетки носоглотки, перед нами была поставлена цель – определить роль ВЭБ в развитии неаллергического полипозного риносинусита.

*Материал и методы.* Проведено изучение 20 полипов носа, полученных при полипэктомии у 20 пациентов с непереносимостью нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Оценка экспрессии белков ВЭБ выполнялась в полипах носа методом иммуногистохимии. Статистический анализ результатов осуществлялся с помощью стандартных пакетов прикладных программ «Microsoft Excel 2007», «Statistica 6.0».

*Результаты.* Специфические белки ВЭБ обнаружены во всех исследуемых полипах носа. LMP 1- белок выявлен в 75% полипов, большинство эпителиальных клеток не имели данный белок. Белок PE2 экспрессировался во многих эпителиальных клетках (в 80% случаев) и клетках воспаления (в 65% случаев). Белок EBV3 определялся преимущественно в цитоплазме лимфоцитов (в 65% случаев).

*Выводы.* При неаллергическом полипозном риносинусите ведущим является воспалительный эндотип полипов с преобладанием фибринозно-отечного компонента. В клетках полипов носа при НПВП-индуцированной патологии в 100% случаев экспрессируются белки ВЭБ. LMP1 и EBV3-белки выявляются преимущественно в клетках воспаления, тогда как PE2-белок обнаруживается в эпителиальных и стромальных клетках.

**Ключевые слова:** Эпштейна–Барра вирусная инфекция, полипы носа, непереносимость НПВП.

### N.A. Suzdaltseva, T.V. Suzdaltseva EVALUATION OF EPSTEIN-BARR VIRUS PROTEIN EXPRESSION IN CELLS OF NASAL POLYPS

Given the wide prevalence of Epstein-Barr virus (EBV) infection and the ability of the virus to infect nasopharyngeal cells, the goal was to determine the role of EBV investigate the expression of EBV proteins in the tissues of nasal polyps in non-allergic polypous rhinosinusitis (NAPR).

*Material and methods.* A study of 20 nasal polyps obtained during polypectomy in patients with intolerance to nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) was conducted. The expression of Epstein-Barr virus proteins was evaluated by immunohistochemistry. Statistical assessment was conducted using basic software package «Microsoft Excel 2007», «Statistica 6.0».

*Results.* Specific EBV proteins were found in all the studied nasal polyps. LMP 1-protein was detected in 76% of polyps, most epithelial cells did not express this protein. The PE2 protein was expressed in many epithelial cells (in 80% of cases) and inflammatory cells (in 64% of cases). The EBV3 protein was detected mainly in the cytoplasm of lymphocytes (in 65% of cases).

*Conclusion:* In NAPR, the leading is the inflammatory endotype of polyps with a predominance of the fibroedematous component. In the cells of nasal polyps with NSAID-induced pathology, EBV proteins are expressed in 100% of cases. LMP1 and EBV3 proteins are detected mainly in inflammatory cells, while PE2 protein is detected in epithelial and stromal cells.

**Key words:** Epstein-Barr viral infection, nasal polyps, NSAID intolerance.

Распространенность назального полипоза существенно различается в разных популяционных субгруппах [1,2]. Так, наиболее часто он встречается при аллергическом грибковом синусите (66-100% случаев), непереносимости аспирина (в 36-72% случаев), фиброзном цистите у взрослых (в 50% случаев). Хронический полипозный риносинусит является гетерогенной патологией как по клиническим проявлениям, так и по механизмам развития [3,4]. У большинства пациентов с хроническим полипозным риносинуситом выявляется Th2- тип воспалительного иммунного ответа [5]. Наиболее сложным для диагностики и лечения является неаллергический эозинофильный полипоз носа (НЭПН), ассоциированный с непереносимостью нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Указанный эндотип забо-

левания отличается прогрессирующим течением, частым рецидивированием, стойкой аносмией, стероидозависимостью. В основе его лежит дефект метаболизма арахидоновой кислоты с гиперпродукцией цистеиниловых лейкотриенов [6]. Остается неясной этиология НЭПН. Учитывая широкую распространенность инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барра (ВЭБ), и способность вируса поражать клетки носоглотки [7], перед нами была поставлена цель – определить роль ВЭБ в развитии неаллергического полипозного риносинусита.

Задачи работы:

1. Провести иммуногистохимический анализ белков ВЭБ: LMP, EBV-3 и PE2 – в клетках полипов носа.

2. Установить локализацию вирусспецифических белков ВЭБ в клетках полипов.

### Материал и методы

Оценку экспрессии белков вируса Эпштейна–Барра в 20 полипах носа, полученных от 20 пациентов с НПВП-индуцированным назальным полипозом, проводили методом иммуногистохимии. В настоящей работе использован иммуноферментный вариант иммуногистохимии, предполагающий применение следующих реагентов: смесь лиофилизированных мышинных моноклональных антител (CS1, IgG1, CS2, IgG1, CS3, IgG1, CS4, IgG1) к латентному мембранному протеину (LMP) вируса Эпштейна–Барра (NCL-EBV-CS1-4), лиофилизированные мышинные моноклональные антитела IgG2a клон EL8 к NCL-EBI-3, лиофилизированные мышинные моноклональные антитела IgG1 клон PE2 к NCL-EBV-PE2 (Novocastra, LeacaBiosystems, Англия). Материал для исследования забирался у пациентов сразу после оперативного вмешательства, затем фиксировался в 10% формалине на фосфатном буфере pH 6,8–7,2 в соотношении 1:20. Получение парафиновых блоков из фиксированного материала (полипы) осуществлялось в автоматическом режиме на вакуумном инфильтративном процессоре «The Tissue – TekVIP» (Германия). На микротоме Microtomeachariot LeicaSM 2000R (Германия) с применением одноразовых микротомных ножей получали срезы толщиной 4 мкм. Срезы переносили на стекла Polysinlildes (Германия) (два среза на одно стекло) и высушивали. Процесс депарафинизации проводился с использованием ксилола и этанола. Для окрашивания препаратов использовали гематоксилин и эозин. Иммуногистохимическое исследование проводилось в лаборатории АО «ЛДЦ Иммунологии и Аллергологии» с использованием моноклональных антител к LMP-1 (разведение 1:100), EBI-3 (разведение 1:100), EBV-PE2 (разведение 1:100). Видеомикроскопическая оценка препаратов осуществлялась на световом микроскопе Micros 300 при суммарном увеличении  $\times 720$  (окуляры 18, объектив 40) и с использованием масляной иммерсии (окуляры 18, объектив 100). Признаком специфического окрашивания было появление коричневого цвета мембраны и цитоплазмы клеток. Статистический анализ результатов проводился с помощью стандартных пакетов прикладных программ «Microsoft Excel 2007», «Statistica 6.0».

### Результаты и обсуждение

Гистологическая картина большинства (14 случаев) исследуемых полипов была характерной для фиброзно-отечной формы па-

тологии с характерными для нее признаками мукозита, изъязвления слизистой, плоскоклеточной метаплазии, гиперплазии эпителиальных и бокаловидных клеток, утолщения базальной мембраны. В воспалительном инфильтрате во всех полипах преобладали эозинофилы, лимфоциты, плазматические и тучные клетки. На рис. 1 видны выраженный отек тканей; признаки хронического воспаления с массивной инфильтрацией стромы, сегментоядерными лейкоцитами, лимфоцитами, тучными и плазматическими клетками.

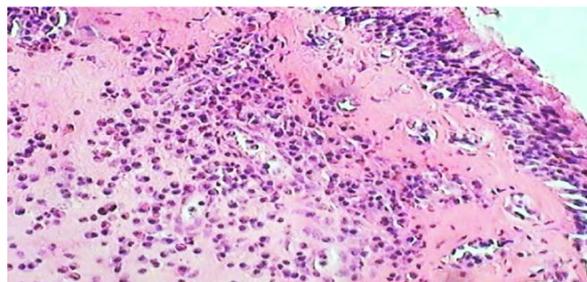


Рис. 1. Гистологическая картина неаллергического полипа носа. Увел.  $\times 1800$ . Окраска гематоксилином и эозином

В 6 случаях при длительном течении полипоза имела место картина преимущественно пролиферативной фазы воспаления, которая характеризовалась значительным увеличением количества лимфоцитов и плазматических клеток в строме.



Рис. 2. Иммуногистохимическая картина НПВП-индуцированного полипа: признаки экспрессии LMP-белка в клетках воспалительного экссудата. Увел.  $\times 1800$ . Окраска гематоксилином

Специфические белки ВЭБ обнаружены во всех исследуемых полипах носа. На рис. 2 показана экспрессия LMP 1-белка на клетках полипов.

Данный белок выявлен в 75% полипов. Как видно из рис. 1 и 2, большинство эпителиальных клеток не экспрессировали LMP1-белок (в 95% случаев). Тогда как в клетках стромы, в том числе в лимфоцитах (в 65% случаев), макрофагах (в 60% случаев), гранулоцитах (в 70% случаев), плазматических (в 60% случаев) и тучных клетках (в 40% случаев), отмечалось наличие иммунохимической метки. На рис. 3 отражена экспрессия белка PE2 ВЭБ.

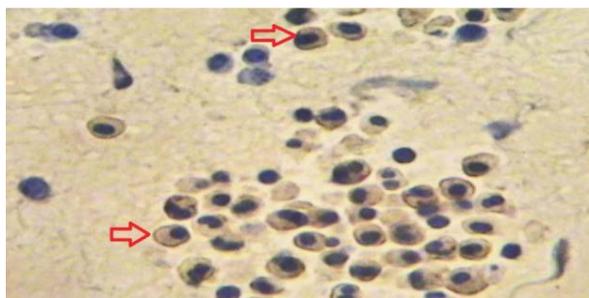


Рис. 3. Иммуногистохимическая картина НПВП-индуцированного полипа: признаки экспрессии PE2-белка в клетках эпителия и воспалительного экссудата. Увел.×720. Окраска гематоксилином

Как видно из рис.3, данная иммуногистохимическая метка обнаружена в 85% полипов носа. Белок PE2 экспрессировался во многих эпителиальных клетках (в 80% случаев) и клетках воспаления, в частности в гранулоцитах (в 65% случаев), лимфоцитах (в 45% случаев), тучных клетках (в 40% случаев).

Белок EBV3 также выявлен в большинстве исследуемых полипах (85% случаев), он определялся преимущественно в цитоплазме лимфоцитов (в 65% случаев), макрофагов (в 40% случаев), эозинофилов (в 55% случаев) (рис. 4).

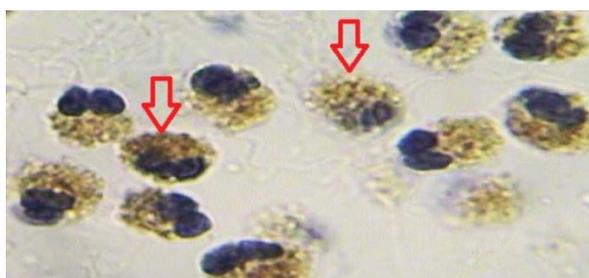


Рис. 4. Иммуногистохимическая картина НПВП-индуцированного полипа: признаки экспрессии EBV3-белка в клетках воспаления. Увел.×1800. Окраска гематоксилином

В проведенном исследовании впервые получены результаты выявления различных белков ВЭБ при НЭПН. Известно, что развитию именно этой формы полипоза носа вирусной этиологии уделяется наибольшее внимание [7,8]. До настоящего времени были опубликованы противоречивые данные по экспрессии отдельных вирусных белков в полипах без учета патогенетической формы полипоза носа [9]. С помощью метода иммуногистохимии убедительно продемонстрировано, что экспрессия трех патогенетически значимых белков ВЭБ выявляется не только на клетках эпителия слизистой полипов носа, но и на клетках, участвующих в развитии воспалительного процесса, в

том числе сегментоядерных лейкоцитах, макрофагах, лимфоцитах, плазматических и тучных клетках. Ряд авторов [8,9] при исследовании полипов носа методом ПЦР выявили ДНК ВЭБ у большинства пациентов. Вирус присутствовал только в стромальных лимфоцитах. В 3% случаев в единичных стромальных клетках с помощью иммуногистохимического метода обнаружены белки ВЭБ: EBNA -2, LMP -1 и ZEBRA [9]. Обнаружение вирус-специфических белков LMP, EBV3, PE2 в различных клетках полипов свидетельствовало о роли ВЭБ-инфекции в развитии полипозного риносинусита, ассоциированного с НПВП-непереносимостью. Известна способность LMP-1 усиливать выживаемость ВЭБ, пролиферацию В-лимфоцитов и других инфицированных клеток [4,9]. Установлено, что белок EBV3 ингибирует продукцию интерлейкина-12 и развитие Th1-иммунного ответа, а белок PE2 индуцирует синтез интерлейкина-10 подобного противовоспалительного протеина, который является сильным ингибитором воспаления [4]. В соответствии с полученными данными предлагается рассматривать хронический неаллергический полипоз носа, индуцированный НПВП, как один из фенотипов респираторной патологии, ассоциированной с хронической ВЭБ-инфекцией. Метод иммуногистохимии для выявления белков ВЭБ может в дальнейшем использоваться для диагностики ВЭБ-ассоциированных фенотипов полипоза носа, в том числе НПВП-индуцированного неаллергического эозинофильного полипоза, который был объектом изучения в проведенной работе. Научные исследования в этом направлении представляются значимыми.

#### Выводы

1. При полипозе носа, ассоциированном с непереносимостью нестероидных противовоспалительных препаратов, ведущим является воспалительный эндотип полипов с преобладанием фиброзно-отечного компонента.
2. В клетках полипов носа при НПВП-индуцированной патологии в 100% случаев экспрессируются белки вируса Эпштейна–Барра.
3. Вирус-специфические белки LMP1- и EBV3 выявляются преимущественно в клетках воспаления, тогда как белок PE2 обнаруживается как в эпителиальных, так и в стромальных клетках.

#### Сведения об авторах статьи:

Суздальцева Наталья Алексеевна – аспирант кафедры инфекционных болезней с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail:germi@mail.ru.

Суздальцева Татьяна Владимировна – д.м.н., врач аллерголог-иммунолог высшей категории, профессор АО «ЛДЦ Аллергологии и иммунологии». Адрес: 443031, г. Самара, ул. Пр. Кирова, 435. E-mail:batan.58@mail.ru.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Волков, А.Г. Хронические полипозные риносинуситы: вопросы патогенеза и лечения / А.Г. Волков, С.Л. Трофименко: учебное пособие. – Ростов-на-Дону: Ид-во: РостГМУ, 2007. – 48 с.
2. Золотова, Т.В. Структурно-патогенетические аспекты антрохоанальных полипов / Т.В.Золотова // Российская ринология. – 2015. – №23(1). – С. 29-32.
3. Пискунов, С.З. К вопросу о патогенезе и морфогенезе антрохоанальных полипов / С.З. Пискунов// Российская ринология. – 2007. – №3. – С.22-27.
4. Львов, Н.Д. Ключевые вопросы диагностики Эпштейн–Барра-вирусной инфекции / Н.Д. Львов, Е.А. Дудукина // Инфекционные болезни. – 2013. – № 3. – С. 45-52.
5. Рязанцев, С.В. Полипозные риносинуситы: этиология, патогенез, клиника и современные методы лечения / С.В. Рязанцев, А.А. Марьяновский: методические рекомендации. – СПб.: Политехника. – 2006. – С. 16-20.
6. Суздальцева, Т.В. Аспирин-индуцированная бронхиальная астма, иммунопатологический образ, патогенетические подходы к диагностике и лечению / Т.В. Суздальцева. Дисс. д-ра мед. наук. – Новосибирск, 2000. – 420 с.
7. Mygind N. Nasal polyposis, eosinophil dominated inflammation, and allergy/ N. Mygind, R.Dahl, C.Bachert// Thorax.-2000.-№ 55 -P.79-80.
8. Settupane G.A. Nasal polyps: epidemiology, pathogenesis and treatment/ G.A.Settipane, V.J.Lund, M. Tos // Providence, Rhode Island 6 The New England and Regional Allergy Proceeding:1997.p.17-24
9. Qian Tao, Gopesh Srivastava, Paul Dickens, and Faith C. S. Ho. Detection of Epstein-Barr Virus-Infected Mucosal Lymphocytes in Nasal Polyps/ Q.Tao [et al.]//American Journal ofPathology.-1996.-№149 (4).-p.1111-1118

## REFERENCES

1. Volkov A.G.,Trofimenko S.L. Hronicheskie polipoznye rinosinusity: voprosy patogeneza i lechenija.Uchebnoe posobie. Rostov-na-Donu.-RostGMU:2007; 48 s.
2. Zolotova T.V. Strukturno- patogeneticheskie aspekty antrohoanal'nyh polipov. Rossijskaja rinologija. 2015; 23(1): 29-32. (in Russ.)
3. Piskunov S.Z. K voprosu o patogeneze i morfogeneze antrohoanal'nyh polipov. Rossijskaja rinologija. 2007;3:22-27. (in Russ.)
4. L'vov N.D., Dudukina E.A. Kljuchevye voprosy diagnostiki Jepshtejna–Barra-virusnoj infekcii. Infekcionnye bolezni. 2013; 3: 45-52. (in Russ.)
5. Rjazancev S.V., Mar'janovskij A.A. Polipoznye rinosinusity: jetiologija, patogenez, klinika i sovremennye metody lechenija. Metodicheski erekomendacii. SPb.: Politehnika,2006. (in Russ.)
6. Suzdal'cevaT.V. Aspirin-inducirovannaja bronhial'naja astma, immunopatologicheskij obraz, patogeneticheskie podhody k diagnostike i lecheniju. Diss. d-ramed. Nauk:2000;420 s. (in Russ.)
7. Niels Mygind, Ronald Dahl, Claus Bachert Nasal polyposis, eosinophil dominated inflammation, and allergy.Thorax:2000; 55: 79-80.
8. Settupane G.A., LUND VJ, Tos M Nasal polyps: epidemiology, pathogenesis and treatment Providence, Rhode Island6The New England and Regional Allergy Proceeding:1997:17-24
9. Qian Tao, Gopesh Srivastava, Paul Dickens, and Faith C. S. Ho. Detection of Epstein-Barr Virus-Infected Mucosal Lymphocytes in Nasal Polyps American Journal ofPathology.1996; 149 (4): 1111-1118.

УДК 616.981.21/958.7

© Л.А. Хасанова, В.А. Мартынов, 2021

Л.А. Хасанова, В.А. Мартынов  
**КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ  
 У ПАЦИЕНТОВ С СЕРОЗНЫМИ МЕНИНГИТАМИ  
 В ПЕРИОД РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ**

*ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет  
 им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, г. Рязань*

*Цель исследования.* Оценить клиническую значимость транскраниального триплексного сканирования (ТТС) сосудов Виллизиева круга у больных с серозным менингитом в период реконвалесценции.

*Материал и методы.* Обследованы 32 пациента: 22 с серозным энтеровирусным менингитом в период реконвалесценции и 10 пациентов из группы контроля. Больным с серозным менингитом в остром периоде впервые 10 дней госпитализации проведена оценка силы головных болей по визуально-аналоговой 10-балльной шкале. В день выписки проводился неврологический осмотр. Пациентам назначалось ТТС сосудов Виллизиева круга с оценкой показателей скоростей и индекса сопротивления (Pi) артерий головного мозга.

*Результаты.* При анализе показателей ТТС сосудов головного мозга у больных с серозным менингитом в период реконвалесценции были выявлены значительные (100% обследуемых) отклонения гемодинамических показателей в артериях Виллизиева круга и венах Розенталя.

*Выводы.* Транскраниальное триплексное сканирование сосудов головного мозга у больных с серозным менингитом является клинически значимо в период реконвалесценции. Оно позволяет оценить динамику функциональных нарушений при данных нейроинфекциях.

**Ключевые слова:** серозный менингит, сосуды головного мозга.

L.A. Khasanova, V.A. Martynov  
**CLINICAL SIGNIFICANCE OF CEREBRAL HEMODYNAMICS  
 IN PATIENTS WITH SERIOUS MENINGITIS DURING RECONVALESCENCE**

*Purpose of the study.* To assess the clinical significance of transcranial triplex scanning (TTS) of the vessels of the Willis circle in patients with serous meningitis during the period of convalescence.

*Material and methods.* 32 patients were examined. 22 patients with serous enteroviral meningitis during the period of convalescence and 10 patients in the control group. Patients with serous meningitis in the acute period in the first 10 days of hospitalization were assessed for the strength of headaches using a visual analogue 10-point scale. On the day of discharge from the hospital, a neu-