



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Александар М. Димић

**Значај екстрацелуларног Heat shock протеина 70 у
процени интензитета хроничног запаљења носне
слузнице и клиничког статуса пацијената са носном
ПОЛИПОЗОМ**

докторска дисертација

Крагујевац, 2023.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Aleksandar M. Dimić

**Significance of extracellular Heat shock protein 70 in
assessing the intensity of chronic inflammation of the nasal
mucosa and the clinical status of patients with nasal
polyposis**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2023

Аутор
Име и презиме: Александар Димић
Датум и место рођења: 04.11.1973. Лесковац
Садашње запослење: специјалиста оториноларингологије Клинике за Оториноларингологију Војномедицинске академије
Докторска дисертација
Наслов: Значај екстрацелуларног Heat shock протеина 70 у процени интензитета хроничног запаљења носне слузнице и клиничког статуса пацијената са носном полипозом
Број страница: 71
Број слика: 9
Број табела: 8
Број графикона: 7
Број библиографских података: 148
Установа и место где је рад израђен: Клиника за Оториноларингологију Војномедицинске академије
Научна област (УДК):
Ментор: Проф. др Александар Перић, ванредни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Оториноларингологија
Оцена и одбрана
Датум пријаве теме:
Број одлуке и датум прихватања теме докторске/уметничке дисертације: 01-4863/16-12 24.06.2020.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испњености услова кандидата:
1. Проф. др Олгица Михаљевић, Ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник; 2. Доц. др Јасмина Стојановић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Оториноларингологија, члан; 3. Проф. др Ненад Балетић, ванредни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Оториноларингологија, члан.
Комисија за оцену и одбрану докторске/уметничке дисертације:
Датум одбране дисертације:

Author
Name and surname: Aleksandar Dimić
Date and place of birth: 04.11.1973. Leskovac
Current employment: Ear, Nose and Throat specialist, Clinic for Ear, Nose and Throat, Military Medical Academy
Doctoral dissertation
Title: Significance of extracellular Heat shock protein 70 in assessing the intensity of chronic inflammation of the nasal mucosa and the clinical status of patients with nasal polyposis
No. of pages: 71
No. of images: 9
No. of tables: 8
No. of charts: 7
No. of bibliographic data: 148
Institution and place of work: Clinic for Ear, Nose and Throat, Military Medical Academy
Scientific area (UDK):
Mentor: Aleksandar Perić, PhD, Associate Professor of Otorhinolaryngology, University of Defense, Medical Faculty of Military Medical Academy, Belgrade
Grade and Dissertation Defense
Topic Application Date: 12/04/2019
Decision number and date of acceptance of the doctoral/artistic dissertation topic: 01-4863/16-12 06/24/2020
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate:
<ol style="list-style-type: none"> 1. Associate Professor of Pathophysiology, Olgica Mihaljević, PhD, University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, President of the Commission; 2. Assistant Professor of Otorhinolaryngology, Jasmina Stojanović, PhD, University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, member. 3. Associate Professor of Otorhinolaryngology, Nenad Baletić, PhD, University of Defense, Medical Faculty of Military Medical Academy, Belgrade, member.
Commision for evaluation and defense of doctoral/artistic dissertation:
Date of Dissertation Defense:

Захваљујем се

прук проф. др Александару Перићу, на разумевању и несебичној помоћи током израде ове дисертације.

пк проф. др Ненаду Балетићу, на помоћи током израде ове дисертације.

Колегама који су са мном несебично поделили знање и умеће.

Посебну захвалност дугујем мојој породици на разумевању и стрпљењу током усавршавања и израде ове дисертације.

Сажетак

Циљеви

Нивои биомаркера у носном секрету могу да одражавају инфламаторни статус носне слузокоже и еволуцију болести синуса. Циљ овог истраживања био је да се процени однос између производње локалних инфламаторних медијатора и клиничких карактеристика пацијената са назалном полипозом (NP).

Методe

У ову студију пресека укључен је 31 пацијент са NP који нису били сензибилисани на аероалергене (NANP), 29 пацијената са NP који су били сензибилисани на аероалергене (ANP) и 30 испитаника без запаљења носне слузнице као контролна група испитаника (C). Процењивани су клинички параметри (симптоми, ендоскопски и радиолошки налаз). Концентрације протеина топлотног шока 70 (HSP70), еозинофилног катјонског протеина (ECP), триптазе, супстанца P и Клара ћелијског протеина 16 (CC16) мерене су у узорцима назалног секрета свих учесника ELISA методом.

Резултати

Наши резултати су показали веће концентрације HSP70, ECP и триптазе код пацијената са ANP него код пацијената са NANP, као и у контролној групи испитаника (C) ($p < 0,001$ за све маркере). С друге стране, ниво CC16 је био значајно виши у групи C него код пацијената из група NANP и ANP ($p < 0,001$; $p < 0,001$, према редоследу). Пронашли смо позитивне корелације између концентрација HSP70, ECP, триптазе и супстанца P у носном секрету и интензитета симптома (укупног скорa симптома) код пацијената са NP. Такође, HSP70, ECP, триптаза и супстанца P су показали различите нивое позитивне корелације међу собом, при чему је HSP70 показао највећу позитивну корелацију са ECP. Коначно, пронађене су релативно високе вредности негативне корелације између нивоа CC16 и назалних симптома, као и између нивоа CC16 и нивоа остала четири медијатора у носном секрету.

Закључак

HSP70, ECP, триптаза и супстанца P могу играти улогу у патогенези NP. Резултати сугеришу да хронична инфламација у NP укључује самоодрживо локално ослобађање HSP70, ECP и триптазе, независно од аероалергенске стимулације мукозног слоја, иако је производња ових медијатора већа код пацијената са NP сензибилисаним на аероалергене.

Кључне речи: носна полипоза, протеин топлотног шока 70, еозинофилни катјонски протеин, триптаза, супстанца P, Клара ћелијски протеин 16, ендоскопски скор, Lund-Maskaу скор.

Abstract

Objectives

Biomarker levels in nasal secretions can reflect the inflammatory status of nasal mucosa and evolution of sinus disease. The aim of this study was to evaluate the relationship between local inflammatory mediator production and clinical characteristics of patients with nasal polyposis (NP).

Methods

Thirty-one nonaeroallergen sensitized patients with NP (NANP), 29 aeroallergen sensitized patients with NP (ANP), and 30 subjects without inflammation of nasal mucosa as controls (C) entered this prospective, cross-sectional study. Clinical parameters (symptoms, endoscopic, and radiological findings) were assessed. The concentrations of heat shock protein 70 (HSP70), eosinophil cationic protein (ECP), tryptase, substance P and Clara cell protein 16 (CC16) were measured in the nasal secretion samples of all participants by ELISA method.

Results

Our results showed higher concentrations of HSP70, ECP, and tryptase in ANP than in NANP and C ($p < 0.001$ for all markers). On the other hand, levels of CC16 were significantly higher in C than in NANP and ANP groups ($p < 0.001$; $p < 0.001$, respectively). We found positive correlations between HSP70, ECP, tryptase, and substance P levels and nasal symptom score in patients with NP. Also, HSP70, ECP, tryptase, and substance P showed different levels of positive correlation among themselves, with HSP70 showing highest positive correlation with ECP. Finally, relatively strong negative correlations were found between the levels of CC16 and nasal symptoms, as well as between the CC16 levels and levels of other four mediators in nasal fluid.

Conclusion

HSP70, ECP, tryptase, and substance P might play a role in the pathogenesis of NP. The results suggest that chronic inflammation in NP involves a self-sustaining local release of HSP70, ECP, and tryptase, independent of aeroallergen stimulation of the mucosal layer, although the production of these mediators is higher in aeroallergen sensitized NP patients.

Key words: nasal polyposis, heat shock protein 70, eosinophil cationic protein, tryptase, substance P, Clara cell protein 16, Endoscopic score, Lund-Mackay score.

Садржај

1	Увод	1
1.1	Историјат	1
1.2	Анатомија, хистологија и физиологија носа и параназалних шупљина	4
1.3	Дефиниција носне полипозе	10
1.4	Епидемиологија.....	11
1.5	Класификација.....	12
1.6	Морфологија.....	12
1.6.1	Хистолошки, носни полип се састоји од епитела и строме.....	13
1.7	Етиопатогенеза	15
1.7.1	Етиологија носне полипозе.....	19
1.7.2	Улога системске атопије	20
1.7.3	Поремећај у метаболизму леукотриена.....	20
1.7.4	Имунски одговор на гљивице	21
1.7.5	Теорија суперантигена	21
1.8	Абнормалности мукозног имунитета	22
1.8.1	Toll-like рецептори (TLR)	22
1.8.2	Матриксне металопотеиназе (MMP).....	22
1.8.3	Други епителијални гени	23
1.8	Протеини топлотног шока (Heat shock proteins - HSP)	23
1.8.1	Интрацелуларни HSP70.....	25
1.8.2	Екстрацелуларни HSP70.....	25
1.9	Еозинофилни катјонски протеин (ECP).....	26
1.10	Супстанца Р	27
1.11	Триптазе.....	29
1.12	Протеин Клара ћелија 16 (Clara cell protein 16 – CC16).....	29
2	Циљеви и хипотезе истраживања	31
2.1	Циљеви истраживања.....	31
2.2	Хипотезе истраживања.....	32

3	Материјал и методе	33
3.1	Дизајн студије.....	33
3.2	Испитаници.....	33
3.3	Алерголошко тестирање	34
3.4	Клиничка процена тежине симптома, локалног налаза и степена проширености болести	34
3.4.1	Процена тежине симптома.....	34
3.4.2	Процена локалног налаза (Ендоскопски скор).....	35
3.4.3	Процена степена проширености болести на снимцима компјутеризоване.....	36
3.5	Узорковање носног секрета	37
3.6	Снага студије и величина узорка	39
3.7	Статистичка анализа	40
4	Резултати	41
4.1	Демографске карактеристике испитаника.....	41
4.2	Резултати алерголошких тестирања	42
4.3	Клиничке карактеристике испитаника	43
4.4	Концентрације медијатора запаљења у носном секрету.....	45
4.5	Статистичка повезаност између клиничких и биохемијских параметара (корелације).....	49
5	Дискусија	50
6	Закључак	60
7	Литература.....	61

1 Увод

Реч полип води порекло од грчке речи $\rho\omicron\lambda\upsilon \rho\omicron\gamma\varsigma$ ($\rho\omicron\lambda\upsilon$ - много ; $\rho\omicron\gamma\varsigma$ - нога) у слободном преводу „много ногу“.

1.1 Историјат

Носна полипоза предстаља један од првих здравствених проблема са којима се људска популација суочила. На основу писаних историских трагова може се закључити да се овај здравствени проблем био присутан у најстаријим познатим цивилизацијама. Древни лекари су у потрази за решењем овог проблема остављали писане и материјалне доказе који нам сведоче о напретку медицине.

Први писани траг о носној полипозу враћа нас у древно Египат, у период око 2500. године п.н.е., у запис који наводи да је Ни-Анк Секмет (Ni-Ankh Sekhmet), лекар краља Сахура, излечио супругу локалног племића од носних полипа (1,2).



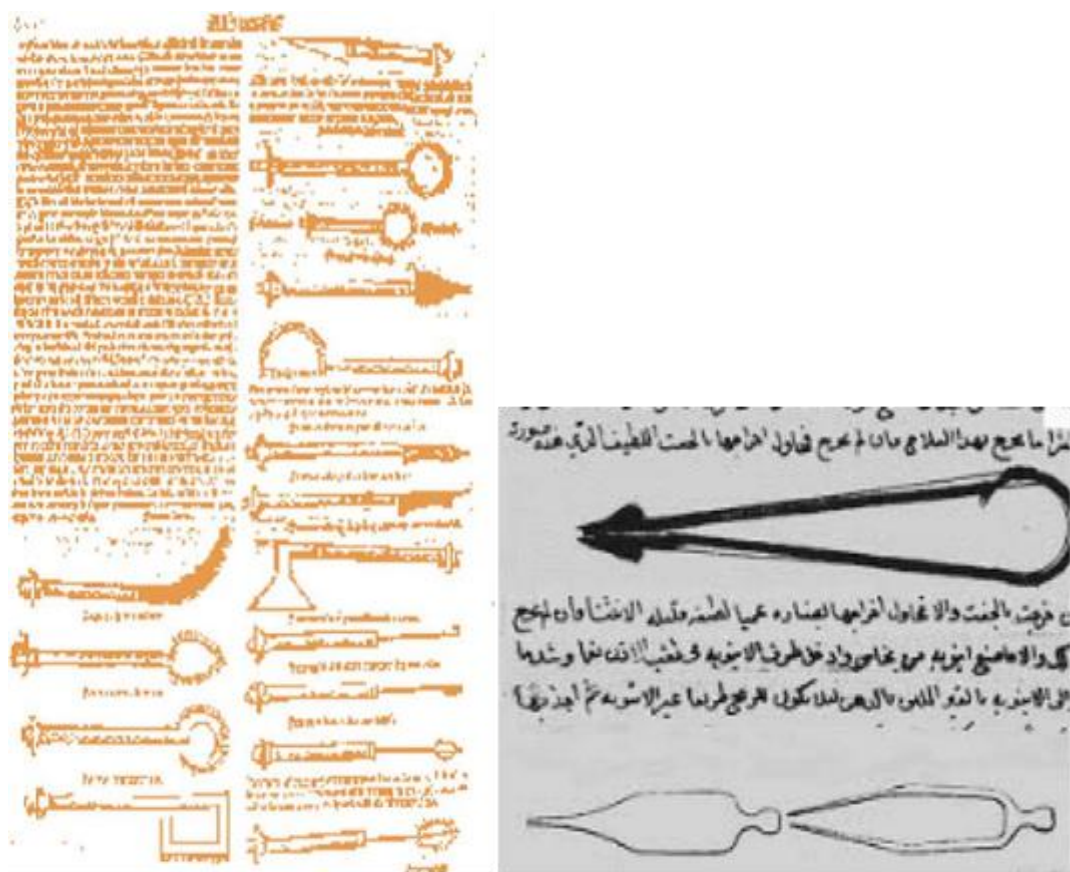
Слика 1: Инструменти коришћени за операцију носне полипозе у древно Египту.
Преузето из (2).

Списи из древне Индије, из 6. века п.н.е., који се везују за име лекара Сушхрута Самхита (Sushrut Samhit), откривају прве писане трагове о хирушком лечењу носне полипозе (2,3).

Популација старе Грчке такође није била поштеђена овог проблема. Отац медицине, Хипократ, у 5. веку п.н.е. описао је два начина уклањања полипа, провлачењем сунђера везаног за конач цроз нос и усну шупљину и уклањање полипа омчом (4).

Клаудије Гален (Claudius Galen) (131-201. године .н.е) познати лекар и филозоф у римском царству, поделио је болести носа у две категорије: полипе и озене (4).

Подаци које налазимо у средњевековним списима упућују да су се хируршке технике базирале на предходним искуствима, а да је напредак нарочито постигнут на пољу анатомије. У овом периоду срећемо и прве етиопатогенетске теорије настанка полипа. Паулус од Егине (Paulus of Aegina) (625-690. године н.е.) је пратио Хипократову хируршку технику, и био први који је идентификовао етмоидне ћелије као најчешће место одакле израстају носни полипи (4). У периоду око 1000. год н.е., лекари са Блиског Истока, Авицена а потом и Абулкасис оставили су писане трагове (Слика 2.) о хирушком уклањању полипа носа, сличне онима које је примењивао Хипократ.



Слика 2: Делови арапских манускрипта о инструментима коришћеним за операцију носних полипа, или “Хемороиди носне шупљине” како су их тада називали (2).

Водећи средњевековн персијски филозоф и научник, Абу Али ел Хусеин ибн Сина (латинизовано Авицена – Avicenna, 980-1037.) познатији као „принц лекара“, је написао дело које је објављено као „Канон медицине“. У свом делу, носне полипе је упоредио са хемороидима и саветовао употреба лигатуре за њихово уклањање (1, 4). Најпознатији италијански хирург из XIII века, Гуљелмо Салицети (Guglielmo Salicetti), познат као Салицето или Салицет (1210-1277.), предложио је постепену дилатацију ноздрва сунђером или неким другим средством како би олакшао авулзију назалних полипа заплетеним нитима коњске длаке (4).

Модерно доба карактерише развој инстурмената који су унапредили како дијагностичке, тако и хируршке технике. Такође, изнето је неколико теорија о настанку полипа. Габријеле Фалопио, или Фалопиус (Gabriele Fallopio, Fallopius, 1523-1562.) користио је лигатуру за уклањање носних полипа (2,4). Године 1571. Аранзио или Аранцијус (Giulio Cesare Aranzio, Arantius) је, дајући извештај о својој методи лечења носних полипа, описао је специјалну хваталицу за полипе, али и предложио осветљење носне шупљине у потпуно замраченој просторији коришћењем светлосног зрака појачаног и усмереног стакленом посудом са водом, налик сочиву (4). Јоханес Месуа Дамасцен (Johannes Mesua Damascenus) је саветовао употребу клешта за уклањање полипа, након чега следи каутеризација њихових полазишта (4). Лоренц Хајстер (Lorenz Heister) (1683-1758.), велики немачки хирург, описао је носне полипе чије је исходиште у акцесорним ушћима максиларних синуса, што би одговарало антрохоаналним полипима (4). Макс Јозеф Фон Хелијус (Max Joseph Ron Chelius) (1794-1876.) чији је уџбеник Handbuch der Chirurgie био стандардни уџбеник у Немачкој до средине XVIII века, први је аутор који наговештава праву природу носних полипа, описујући их као инфламирану слузницу испуњену серумом (2,4). Фридрих Теодор фон Фрерихс (Friedrich Theodor von Frerichs) (1819-1885.) указује на чињеницу да је површина носних полипа макроскопски слична површини епитела околне слузнице (4). Џејмс Пеџет (James Paget) (1814-1899.) класификовао је назалне полипе као фиброцелуларне туморе, указујући на значај растреситог везивног ткива слузнице носа и параназалних синуса у њиховој патогенези (4). Рудолф Вирхов (Rudolf Virchow) (1821-1902.), научник познат као оснивач модерне патологије, описао је носне полипе као миксому (4). Теодор Билрот (Theodor Billroth) (1825-1894.) је упоредио хистолошку структуру полипа слузнице дебелог црева са носним полипима и изјаснио се да су скоро све ове структуре аденоматозног, односно жлезданог порекла (4). Године 1872. Волтолини (Votolini) је први скренуо пажњу на блиску повезаност између астме и носних полипа, као и побољшању симптома астме након уклањања полипа (4).

Савремено доба је донело прави процват у дијагностичким процедурама и у хирургији носних полипа. Развој и употреба нових технологија довела је до значајног напретка у дијагностици и терапији носне полипозе, пре свега применом ендоскопских процедура за дијагностику и лечење. Научно - технолошка достигнућа омогућила су велики напредак у терапији носне полипозе али је суштина хирушког лечења остала слична. Филип Бозини (Philipp Bozzini) је почетком 19. века осмислио ендоскоп, што је довело до великог напретка у области ринолошке дијагностике (2). Године 1926. Џон Берд (John Baird), изнео је идеју о преношењу слика кроз флексибилно стаклено влакно, што је наговештај употребе оптичких влакана у преношењу сигнала током ендоскопије (2).

Средином века започета је употреба микроскопа у ринологији, што је донело велики напредак у хируршкој техници. Радиологија, посебно развој компјутеризоване

томографије током последњих деценија, помогло је у приказу детаља везаних за параназалне шупљине.

Најзначајани напредак у последњих 25 година је био развој мање инвазивних хируршких процедура, посебно ендоскопске хирургије (Слика 3). Дејвид Кенеди (David Kennedy) је заслужан за пионирски подухват ендоскопске хирургије синуса у САД, познат као функционална ендоскопска синусна хирургија (functional endoscopic sinus surgery – FESS). Професор Валтер Месерклингер (Walter Messerklinger) и његов наследник Хајнц Штамбергер (Heinz Stammberger) из Аустрије су заслужни за допуну знања о анатомији, физиологији и патологији параназалних синуса. Њихов рад на детаљном проучавању аерације предњих етмоидалних ћелија био је од кључног значаја за разумевање дренаже и вентилације параназалних синуса и мукоцилијарног транспорта.



Слика 3: Модерни инструменти у употреби за FESS хирургију (3)

Осим хируршког лечења, носна полипоза се лечи и конзервативно. У том виду лечења највећи значај има примена интраназалних (топикалних) (мометазон-фуروات, флаутиказон-фуروات, флаутиказон-пропионат и други) и системских кортикостероида (метил-преднизолон и други) (2,4). Осим тога, примена пероралних макролидних антибиотика (еритромицин, рокситромицин, кларитромицин), интраназалних и системских антихистаминика, као и испирања носне шупљине сланим растворима имају своје место у медикаментотном лечењу ове болести. Током последње деценије је највише пажње усмерено на примену биолошке терапије моноклонским антителима (омализумаб, меполизумаб, дупилумаб и други), нарочито код пацијената код којих је носна полипоза удружена са астмом и преосетљивошћу на нестероидне антиинфламаторне лекове (4).

1.2 Анатомија, хистологија и физиологија носа и параназалних шупљина

Нос и параназалне шупљине представљају коморни систем постављен симетрично око назалног септума као медијалне осе, пнеуматизујући кости лица од периода ембрионалног развоја до пубертета.

У периоду између трећег и четвртог месеца трудноће долази до инвагинације носне слузнице и формирања синусних зачетака.

На рођењу развијени су само етмоидални и вилични синуси, а остали синуси достижу пуни развој након пубертета.

Вилични или максиларни синуси заузимају већи део тела горње вилице, тространо призматичног су облика са врхом окренутим у поље, а база синуса чини латерални зид носне дупље. На синусу описујемо неколико удубљења: надоле (алвеоларни рецесус), нагоре (етмоидни рецесус) и споља (зигоматични рецесус). Отвор синуса је полумесечастог изгледа (*hiatus semilunaris*) и налази се у средњем спрату носног ходника.

Етмоидални синуси имају изглед саћа и бисегасто су распоређени око коштаног дела носне преграде (*lamina perpendicularis ossis ethmoidalis*). Са сваке стране преграде налази се од 7 до 15 малих шупљина дијаметра по неколико милиметара. Етмоидни синуси су подељени у две групе предње и задње етмоидалне ћелије. Границу ове две групе ћелија чини велика ламела која представља задњи зид етмоидалне буле. Предње етмоидалне ћелије се отварају у средњем носном ходнику, а задње у горњем носном ходнику. Понекад се у максиларном синусу, на горњем зиду може наћи издвојена етмоидална ћелија која се назива Халеровом ћелијом. У задњим етмоидалним ћелијама позади и бочно може се наћи ћелија која је у односу са оптичким нервом, која се зове Онодијева ћелија.

Фронтални или чеони синус се налази у фронталној кости. Показује велике варијације у величини и облику. Коштаном ламелом, септумом, подељен је на десни и леви. Синус је левкастог облика са изводним каналом који се отвара у инфундибулуму, који се наставља у фронтални шпаг. Фронтални синус се отвара у средњем носном ходнику сам или заједно са максиларним синусом непосредно иза сабљастог наставка етмоидалне кости (*processus uncinatus ossis ethmoidalis*).

Сфеноидални синус смештен је у телу сфеноидалне кости. Отвор синуса се налази у горњем носном ходнику. У непосредном је односу са хипофизом која лежи на горњој површини крова синуса. Бочни зидови су у односу са кавернозним синусима, као и са III, IV и VI кранијалним живцем.

Носне шупљине су преградом подељене на два дела, тако да њихов септум чини медијални део.

Дно сваке носне шупљине се састоји од палатиналних наставака максиле и хоризонталних наставака палатиналних костију.

Кров је формиран од ламине криброзе етмоидалне кости, а на бочном зиду налазимо три носне шкољке (доње, средње и горња). Носне шкољке са септумом чине три носна ходника (доњи, средњи и горњи).

Доња носна шкољка је посебна структура која се везује за сузну кост, максилу и непчану кост, док су средња и горња део етмоидалне кости.

У доњем носном ходнику отвара се сузни канал, у средњем носном ходнику отварају се фронтални и максиларни синуси и предње етмоидалне ћелије, а се у горњем носном ходнику отварају се задње етмоидалне ћелије и сфеноидални синус.

Иако је на изглед једноставна, синоназална анатомија се састоји од замршених и подељених ваздушних пролаза и дренажних путева који повезују синусе.

Код људи постоје четири парна синуса и сви обложени респираторном слузницом са псеудостратификованим цилиндричним епителом. Мањи део носне шупљине је обложен слузницом која је специјализована за пријем мирисних сензација (мирисна или олфакторна слузнице). Овај део се налази у горњим партијама носне шупљине, са обе стране носног септума, као и на кореспондирајућим деловима горњих и средњих носних шкољки.

О функцији параназалних синуса се и даље расправља. Међутим, верује се да су укључени у неколико улога: смањење релативне тежине лобање, повећање резонанције гласа, обезбеђивање заштите код трауме лица, изолација осетљивих структура од брзих температурних флукуација у носу и кондиционирање ваздуха као и улогу у имунолошкој одбрани (5).

ВАСКУЛАРИЗАЦИЈА НОСА

Унутрашњи део носа и носне шупљине васкуларизује пет артерија:

- а. ethmoidalis anterior и а. ethmoidalis posterior (гране офталмичне артерије - гране унутрашње каротидне артерије), а остале гране потичу из спољашње каротидне артерије:

- а. sphenopalatina, а. labialis superior и а. palatina. Све ове артерије, осим задње етмоидалне артерије, анастомозирају се једна са другом у предњем делу септума, изграђујући Киселбахов локус.

Вудрафов плексус је васкуларна анастомоза између сфенопалатинске артерије и узлазне фарингеалне артерије (6).

Венски систем чине: v. facialis и v. opthalmica и вене птеригоидног и фарингеалног плексуса.

ИНЕРВАЦИЈА НОСА

Инервацију унутрашњег носа дају прва и друга грана тригеминалног нерва (CN-V). Симпатичка и парасимпатичка инервација носа долази преко Видијевог нерва. Састоји се од парасимпатичких нити које долазе из n. intermedius преко n. petrosus superficialis мајор и симпатичких нити које долазе из кичмене мождине кроз горње цервикалне ганглије, а као постганглијска влакна - n. petrosus profundus. Постганглијски симпатички и парасимпатички нерви допиру до слузокоже носа и грла и сузних жлезда. Парасимпатичка влакна су одговорна за правилно функционисање жлезда назалне слузокоже и сузних жлезда, а симпатичка влакна регулишу ширење крвних судова у носу.

ФИЗИОЛОГИЈА НОСА И ПАРАНАЗАЛНИХ СИНУСА

Три примарне функције носа су: дисање (респирација), да филтрира ваздух који се удише од нечистоћа и алергена (филтрација) и пријем мирисних сензација из околине у циљу функције чуло мириса (олфакција) (7).

Дисање

Сваког дана, 10.000 L ваздуха доспе у доње дисајне путеве током плућне вентилације. Ваздух улази у нос кроз ноздрве, као последица разлике градијента притиска који постоји између спољашње средине и плућних алвеола, и конвергира кроз такозвани назални вентил („носна валвула“), смештен у предњем делу носа одмах иза носног вестибулума. Термин "носни вентил - валвула" односи се на подручје које је медијално оивичено носним септумом, бочно од главе доњег дела доње носне шкољке и изнад задње ивице спољашњег крила аларне хрскавице. Ова површина чини око 50% укупног отпора респираторног система и омогућује ламинарни проток ваздуха. Како удахнути ваздух напусти подручје валвуле, површине мање од 1cm², и уђе у подручје већег промера тј. носни ходник, брзина ваздуха се смањује са 18 m/s на 4 m/s и ламинарни ток ваздуха постаје турбулентан. Ваздух се потом дели у три ваздушне струје од којих највећи проценат пролази кроз средњи носни ходник. Само мањи део ваздуха (око 5% – 10%) одлази у олфакторну регију. Треба напоменути да је минимални проток ваздуха у пределу пода носне шупљине, тј. кроз доњи носни ходник.

Карактеристике кретања ваздуха одређене су Рејнолдсовим бројем.

$$Re = \frac{\rho v^2}{\mu v/l} \Rightarrow Re = \frac{F_{in}}{F_{visk}}$$

Где су:

- l - дужина (m)
- v - брзина (m/s)
- ρ - је густина [kg/m³]
- μ је вискозност[kg/ms]
- F in - инерцијалне силе
- F vis - вискозне силе

Физички смисао Рејнолдсовог броја је однос инерцијалних и вискозних сила флуида (8).

Максимална дистрибуција удахнутог ваздуха у носну шупљину омогућава размену топлоте, влажење ваздуха и задржавање партикула из удахнутог ваздуха на респираторној слузници тј. на њеном мукозном слоју (слоју обложеном носним секретом).

Мукоцилијарни транспорт

Слузокожу носа највећим делом представља трепљасте цилиндрични псеудостратификовани епител који облаже нос и параназалне синусе. Свака ћелија на својој површини има 50 – 100 трепљи (цилија) са фреквенцом покретања од око 1000/мин. (Мигинд 1978).

Цилије су урођене у перицилијарну течност мале вискозности. Кретање једне цилије одвија се у две фазе: брзи удар унапред и спори повратни удар у односу 1:3. Покрети цилија су синхрони у паралелним редовима један за другим формирајући метакхроне таласе који транспортују егзогене честице према назофаринксу. Из шупљина параназалних синуса честице се померају ка њиховим природним ушћима.

Слузницу носа прекрива двослојна течна структура (носни секрет).

Мукозни слој је довољно дубок (дубљи слој) да се избегне заплитање цилија са вискоеластичном слузи (горњи, површнији слој) која плута на површини носног секрета, омогућавајући да се слуз која садржи честице прашине и микроорганизме креће до ждрела.

Мукозни слој продукују серозне и серомуцинозне жлезде локализоване у међуслоју ламине проприје, и интраепителне пехарасте ћелије.

Филтрација

Удахнути ваздух садржи велику количину суспендованог егзогенних честица и гасове. Турбуленција удахнутог ваздуха узрокује таложeње честица одмах иза суженог подручја, носне валвуле. Ефикасност овог носног филтера зависи од пречника честице. Честица веће од 10 μm буду задржане у носном секрету док честице мање од 1 μm , допиру до алвеола. Наталожене честице, између 10 и 1 μm у пречнику, уклањају се из назалне слузокоже у року од 6-15 минута у зависности од ефикасности мукоцилијарног система.

Грејање и влажење ваздуха

Крвни судови назалне слузокоже су најзначајнији за функцију грејања и влажења удахнутог ваздуха. Артериоле назалне слузокоже карактерише одсуство унутрашње еластичне мембране тако да је ендотелна базална мембрана у непосредном односу са базалном мембраном глатких мишићних ћелија. Поред тога, назалне крвне судове карактерише порозност ендотелне базалне мембране, тако да субендотелна мускулатура ових судова може бити лако доступна утицају агенаса које се преносе у крви. Између капилара и венула су уметнуте кавернозне синусоиде и оне су локализоване у доњем слоју ламине проприје.

На кондиционирање ваздуха, сем назалних крвних судова утичу бројни фактори, као што су серомукозне жлезде, пехарасте ћелије, плазматични трансудат и сузни секрет. Штавише, нос има додатне карактеристике које доприносе загревању и влажењу удахнутог ваздуха као што су: максимални контакт са зидом и мешовити ток ваздуха (ламинаран и турбулентан, према различитим областима носне шупљине) као и

способност промене попречног пресека самих носних шкољки у зависности од варијације температуре и влажности околиног ваздуха.

Антимикробна одбрана

Поред физичког уклањања микроорганизама и других штетних материја мукоцилијарним транспортом, важну линију одбране обезбеђује присуство макрофага, базофила, мастоцита, леукоцита, еозинофила и антибактеријских/антивирусних супстанци које укључују имуноглобулине, лактоферин, лизозиме и интерферон.

Рефлексна функција

Слузокожа носа обилује нервним завршецима соматског и аутономног система. Сензорна влакна долазе од тригеминалног нерва, док парасимпатичка влакна потичу од фацијалног нерва, а симпатичка влакна из горњег вратног ганглиона. Аферентни импулси (стимулус) се преносе преко сензорних влакна до централног нервног система. Еферентни импулси се пропагирају преко аутономних, вазомоторних и секреторно-моторних нервних влакана. Стимулација назалне слузокоже доводи до кијања, воденасте секреције (ринореје) и промена у крвотоку.

Осим назалних ефеката, стимулацијом слузнице остварују се системски рефлeksi као што је инхибиција дисања услед повећања отпора у носу. Шта више, долази до повећања отпора у крвним судовима коже, мишића, спланхничкој и бубрежној циркулацији.

Треба истаћи да се и минутни волумен срца смањује током назалне стимулације, због брадикардије.

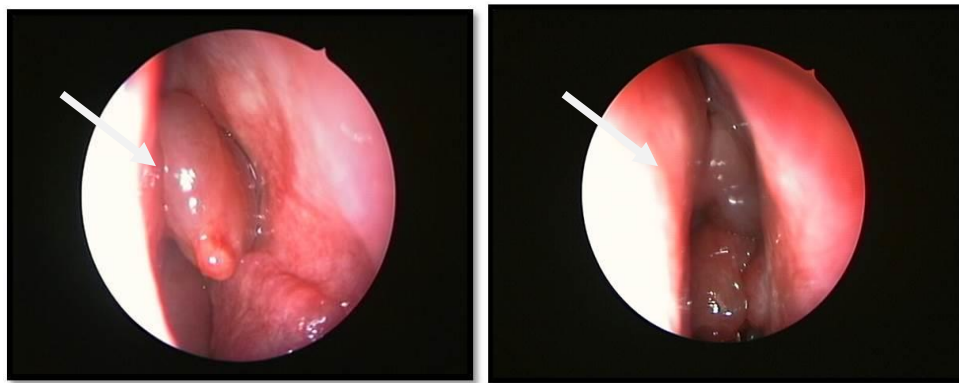
Олфакторна функција

Чуло мириса је посредовано стимулацијом олфакторних рецептора испарљивим супстанцама. Четири различита типа ћелија формира мирисни епител: (а) биполарни олфакторни неурон, који је примарни сензорни неурон са олфакторним рецепторима, из којих се простире неколико мирисних цилија; (б) базалне ћелије, која замењује биполарне неуронске ћелије сваких 7 недеља; (в) суштентакуларне ћелије, које делују као ћелије за подршку и које снабдевају хранљивим материјама биполарне неуронске ћелије; (г) микровиларне ћелије, које немају јасно дефинисану улогу осим као помоћне мирисне ћелије. Жлездане ћелије су такође присутне у мирисној слузници и оне граде Боуманове жлезде, које обезбеђују серозни секрет који покрива олфакторни епител. Тачан механизам настанка чула мириса није у потпуности разјашњен. Предложено је више теорија, али ниједна није комплетно научно подржана. Различити мириси производе различите обрасце активности широм олфакторне слузокоже. Молекуларно објашњење је да долази до деполаризације биполарних неурона, што резултира акционим потенцијалом који се преноси дуж олфакторног нерва, а информација се обрађује централно у олфакторном туберкулу, пириформном кортексу, амигдалоидном језгру и хипоталамусу. Занимљиво, ћелије рецептора мириса су једине нервне ћелије

које су теоријски способне за регенерацију, као што је у случајевима опоравка чула мириса након тешких повреда олфакторне регије (9,10).

1.3 Дефиниција носне полипозе

Полипи носа и параназалних шупљина се дефинишу као као инфламаторне израстине хипертрофичне респираторне слузнице носно-синусне регије (5) (Слика 4).



Слика 4: Ендоскопски приказ полипоидних структура означен стрелицама (фотографије из личне архиве)

Хронични риносинуситис (chronic rhinosinusitis - CRS) је хронично запаљење носно-синусне слузнице, које погађа приближно 13% -16% одрасле популације у САД и око 8% кинеске популације (11). Обољење се јавља у облику хроничног риносинуситиса са носним полипима (CRHwNP) и хронични риносинуситис без носних полипа (CRHsNP). Генерално, док CRHsNP карактерише претежно неутрофилно запаљење са доминацијом Т1 имунског одговора и повећаним нивоом Т1 цитокина у ткиву носне слузнице и параназалних синуса, CRSwNP често карактерише еозинофилно запаљење са доминацијом Т2 имунског одговора и повишеним нивоом Т2 цитокина (12).

Идентификовање инфламаторних образаца CRS има за циљ не само да се побољша разумевање патофизиолошких механизма, већ ће помоћи у одабиру стратегија лечења. Присуство еозинофилије у ткиву инфламиране слузнице у CRSwNP често је повезано са опсежном болешћу синуса, већим погоршањем квалитета живота и већом стопом постоперативних рецидива полипа (13).

Према смерницама које су издали Европско ринолошко удружење (European Rhinologic Society) (14) и Америчка академија за оториноларингологију и хирургију главе и врата (American Academy of Otolaryngology and Head and Neck Surgery) (15), клинички се хронични риносинуситис са носном полипозом карактерише:

- Инфламацијом слузнице носа и параназалних шупљина, удруженим са два или више симптома од којих је један опструкција или конгестија носа а други присуство или одсуство фаџијалног бола или смањење чула мириса у периоду дужем од 12 недеља;
- Ендоскопском верификацијом полипа и/или мукопурулентне секреције у средњем носном ходнику као и отоком слузнице средњег носног ходника;
- Компјутеризованом томографијом се верификују промене у параназалним синусима у виду специфичних мекоткивних засенчења.

1.4 Епидемиологија

Инциденца носне полипозе код одраслих је у распону од 1-4%, доминантније код мушкараца (2 - 4:1 у односу на особе женског пола). Инциденца носне полипозе у дечијој популацији је знатно нижа (0,1%). Учесталост носне полипозе варира код различитих група у популацији. Код пацијената са хроничним ринитисом полипе налазимо у око 2% случајева (12). Код пацијената са интолеранцијом аспирина и других нестероидних антиинфламаторних лекова (НСАИЛ), носна полипоза је присутна у 36% случајева, код цистичне фиброзе у око 20% случајева а постоје и обољења као што је алергијски гљивични риносинуситис код кога се полипоза јавља у 66-100% случајева. Присуство полипа је уочено и код Јанговог (Young) синдрома, цилијарне дисфункције -Картагенеров (Kartagener) синдром (око 27%), као и Чарц-Штраусовог (Churg Strauss) синдрома, који се данас зове еозинофилна грануломатоза са полиангиитисом.

Треба нагласити значај генетског фактора у развоју носно-синусне полипозе. Студије показују да је у 14% случајева забележено присуство полипозе носа код чланова једне породице. Уочена је повезаност развоја полипа са HLA - A1B8 и HLA - A74 геном (10). Присуство полипа код пацијената са алергијским ринитисом креће се у распону од 0,4 - 4,5%, али је присуство алергије код пацијената са полипозом од 10 - 64% (16).

Треба нагласити да постоје извесна неслагања којима иду у прилог различите дијагностичке процедуре, етничке разлике, као и фактори спољне средине.

1.5 Класификација

Према Штамбергеровој (Heinz Stammberger) класификацији, полипе носа и параназалних синуса делимо на (Табела 1):

Тип 1	Антрохоанални полипи
Тип 2	Хоанални полипи
Тип 3	Носна полипоза у хроничном синуситису без еозинофилије
Тип 4	Носна полипоза у хроничном синуситису са доминантном еозинофилијом, где убрајамо и пацијенте са неалергичким ринитисом са еозинофилним синдромом (НАРЕС), пацијенте са преосетљивошћу на НСАИЛ, као и са гљивичним синуситисом
Тип 5	Носна полипоза у системским болестима (примарна цилијарна дискинезија, еозинофилна грануломатоза са полиангиитисом, цистична фиброза и др.)

1.6 Морфологија

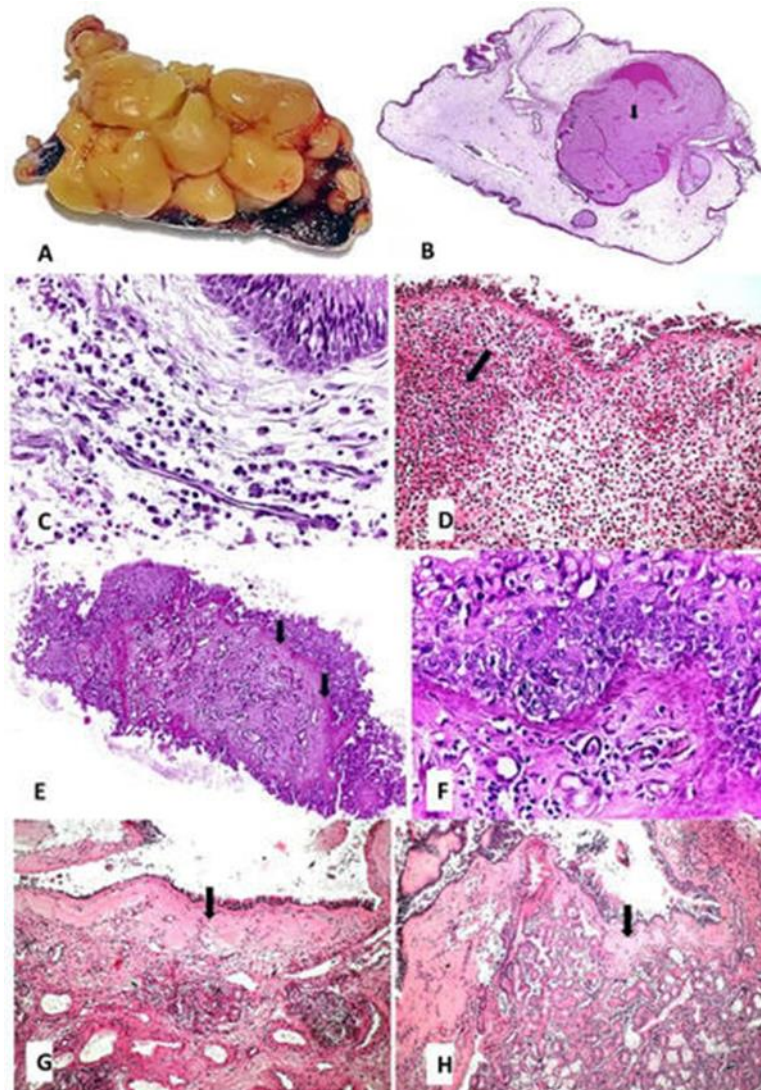
Морфолошки, на полипу разликујемо:

- Петелку
- Тело полипа (проксимални, средњи и дистални део)

1.6.1 Хистолошки, носни полип се састоји од епитела и строме.

Епител, који је респираторног типа, представља спољашњи омотач полипа и као такав трпи утицај егзогених чинилаца. Временом, ова структура метаплазира те се могу идентификовати различити типови епитела. Респираторни епител може да метаплазира у псеудослојевит епител са цилијарним и пехарастим ћелијама, ниски коцкасти, цилиндрични епител, слојевити, некератинизирајући епител и прелазни епител. Епител полипа је најчешће псеудослојевит цилиндрични епител и покрива од 62 до 78% површине полипа. Прелазни епител је нађен у 33% случајева у носним полипима који полазе из предњих етмоидалних ћелија и у око 19% полипа који полазе из задњих етмоидалних ћелија. Најмање је заступљен плочасто-слојевити епител, у око 5% полипа. Ове врсте епитела карактерише ирегуларност распореда и густине пехарастих ћелија. Густина пехарастих ћелија је највећа у псеудослојевитом цилиндричном епителу а најнижа у прелазном и плочастом епителу (17).

Строму полипа сачињавају растресито везивно ткиво, крвни судови и имунокомпетентне ћелије (еозинофили, базофили, неутрофили, мастоцити, плазмоцити, лимфоцити и друге) (Слика 5.). У строми полипа се пружају мукозне жлезде, углавном смештене у дисталном делу полипа, док се отвори тих полипа налазе у епителу и углавном су распоређени у пределу петељке полипа. Густина жлезда у полипима је значајно мања од густине жлезда у носној слузници (0,5 жлезда/mm² површине полипа). Васкуларизација строме полипа је знатно слабија у односу на здраву респираторну слузницу носне шупљине/параназалних синуса. Специфичност васкуларне мреже огледа се у одсуству артерио-венских анастомоза, венских синусоида, слабијој припојености ендотелних ћелија венула за базалну мембрану, као и одсуство нервних завршетака у зидовима крвних судова. Медијатори запаљења доводе до ексудације богате пептидима и различитим макромолекулима, тако да се део носног секрета који се продукује у ткиву носних полипа значајно разликује од састава секрета здраве носне слузнице. Ова једињења могу бити генератор хроничног запаљења. Присуство нервних завршетака у строми полипа је уочено углавном у пределу петељки носних полипа (16).



Слика 5: Хронични риносинуситис са носним полипима – носна полипоза (CRSwNP): (A)—макроскопски аспект едематозне етмоидалне слузокоже: едем је створио полипоидан изглед (хируршки ресециран фрагмент током функционалне ендоскопске хирургије синуса; (B)—интерстицијски едем са акумулацијом цистичне слузи (мукоцела) означен стрелицом; (C) — на позадини едема слузокоже, фокално, налази се мешовити инфламаторни инфилтрат, који се састоји од зрелих лимфоцита помешаних са плазма ћелијама; (D)—еозинофилни инфламаторни инфилтрат, кластер са еозинофилима означеним стрелицом; (E) — сквамозна метаплазија и задебљање базалне мембране (стрелице) ; (F)—деталј сквамозне метаплазије показује непостојање сквамозног слоја и присуство хиперпластичног базалног и грануларног слоја са неким инфламаторним ћелијама које су мигрирале у слојевит епител; (G)—задебљање базалне мембране (стрелица) са минималном инфламацијом у ламини проприја; (H)—задебљање базалне мембране (стрелица) са потпуном резолуцијом запаљења;

Преузето из (18).

Класификација носних полипа на основу хистолошких карактеристика је веома значајна за диференцијално-дијагностичко искључивање неоплазми.

Хистолошки разликујемо четири типа носних полипа:

1. Алергијски (едематозни, еозинофилни) полипи. Представљају најчешћи подтип, који налазимо их у око 86% случајева. Карактерише их изражена хиперплазија пехарстих ћелија, хијалинизирана базална мембрана, присуство густе инфилтрације еозинофилима и мастоцитима строма и епитела полипа као и едематозна строма. Строма је богата фибробластима, инфламаторним ћелијама и псеудоцистичним просторима, који су испуњени течним садржајем (19).

2. Фиброинфламаторни полипи. Овај подтип полипа је присутан у око 8,4% случајева. Карактерише се изостанком хиперплазије пехарстих ћелија и мањим стромалним едемом. Базална мембрана је дискретно задебљала. Стромални инфилтрат богат је лимфоцитима и фибробластима. Серомуцинозне жлезде су хиперпластичне. С друге стране, присутне су метапластичне промене епитела које иду иду у правцу сквамозног и кубоидног епитела (20).

3. Полипи са хиперплазијом серомуцинозних жлезда. Присутни су у мање од 5% случајева. Карактерише их едематозна строма богата цилиндричним серомукозним жлездама. Због доминације жлезданих структура, ова група је раније често била погрешно дијагностикована као аденом, док данас има карактеристике посебног клиничког ентитета, означеног као респираторни хамартом (21).

4. Полипи са стромалном атипичном. Представљају ретку форму полипа, који се микроскопски тешко могу разликовати од неоплазми. Хистолошки налаз укључује хиперхроматске, звездасте, атипичне ћелије. Ове атипичне ћелије присутне су само у појединим подручјима полипа. Недостатак митозе је једино што их разликује од неоплазме, због чега је у диференцијално-дијагностичке сврхе често потребно урадити имунохистохемију (22)(19). Међутим, у највећем броју случајева, хистолошки, полипи представљају комбинацију више врста хистолошких подтипова (23).

1.7 Етиопатогенеза

Прошло је више од 4 миленијума од како је забележен први случај носне полипозе. Почети објашњења етиопатогенезе носне полипозе везују се за Целсуса (Celsus) у првом веку н.е. Он је везивао појаву носне полипозе за подручја влажних и топлих климатских карактеристика.

У 17. веку је преовладало мишљење да су носни полипи одраз системске болести, а да локална траума такође може да погодује развоју полипа. Voerhaave, 1744.г. наводи да је носна полипоза последица проширења синусне мембране (24).

У исто време, Мане и Хеистер (Manne and Heister) наводе да полипи носна настају опструкцијом канала мукозних жлезда.

Контраверзе око етиопатогенетких чиниоца настављене су и током 19. века. Вирхов (Virchow) сматра да су то примарни тумори са карактеристикама миксома.

Билрот (Billroth) је носне полипе сматрао аденомима, а Хопман (Hormann) је ове промене описивао као фиброме.

Систематска истраживања етиолошких фактора су започета у 20. веку. Керн и Шенк (Kern ; Shenck) су 1933. указали на везу између алергије и носне полипозе. Њихови подаци су показали да се носна полипоза јавља у 25,9% пацијената са алергијским ринитисом а у 3,9% у неалергичној популацији, а да су етмоидне ћелије предилекционо место за развој полипозе. Присталице ове теорије указују на значајну количину локално произведеног имуноглобулина Е (IgE) у назалним полипима (25).

Ову теорију је оповргли Цаплин (Caplin) и Бунаг (Bunnag) са сарадницима, који су указали да осетљивост на алергене није примарни узрок носне полипозе. Током истраживања дошли су до података да је само код 5% пацијената са алергијама дијагностикована носна полипоза. Према истраживањима ових аутора, изузетак чине пацијенти са гљивичним риносинуситом код којих је у 85% дијагностикована носна полипоза. Гљивичне антигени делују слично као и суперантигени и стимулишу лимфоците Т на производњу прекомерне количине цитокина, углавном интерлеукина 2 (IL-2) (26,27).

Након одбацивања ових теорија постављена је хипотеза некротизирајућег етмоидитиса која није подржана, јер су каснија истраживања показала одсуство некрозе костију етмоидалних ћелија. Референца? Новонастале теорије, glandуларно-цистична теорија и теорија цистичне дилатације, оповргнуте су јер се ове промене дешавају у инфламираној носној слузници тек након формирања полипа у носу. Референца?

Сличну судбину је имала и Егстонова (Eggston) теорија перифлебитиса и перилимфангитиса заснована на присуству хроничних васкуларних промена и дифузног едема у строми полипа (28).

Осамдесетих година прошлог века објављене су студије које указују на развој носне полипозе код неалергијског ринитиса са еозинофилним синдромом (NARES) (29).

Слаба тачка ове теорије је чињеница да назални полипи дијагностиковани код 30-40% пацијената са овим синдромом (30).

Бернштајн (Bernstein) и сарадници 1994. године објавили су тзв. инфламаторно-биоелектричну теорију по којој је „оксидач“ иницијалне инфламације промена у биоелектрицитету натријумских и хлоридних канала епителних ћелија слузокоже носа(31,32).

Према овој теорији иницијални етиолошки чиниоци су турбулентно кретање ваздуха и притисак који се остварује у пределу бочних зидова носних ходника као и утицај бактеријских, вирусних и других агенаса. Рекурентна инфламација доводи до оштећења слузнице и промена на нивоу натријумских и хлоридних канала. Промене у мембранским каналима доводе до неправилне прерасподеле ових јона тј. лучења хлорида у лумен носне шупљине, што за последицу има поремећај мукоцилијарног транспорта слузнице носа. Последишно долази и до накупљања воде у интерстицијалном простору, што резултује едемом и формирањем носних полипа. У прилог овој теорији говори сазнање да епител назалних полипа има капацитет да продужи реапсорпцију

натријумових јона и губитак хлоридних јона у поређењу са неизмењеним епителом носне слузнице (33).

У даљим испитивањима потврђено је да узрок накупљања течности у полипима може бити и поремећај функције протеина трансмембранске цистичне фиброзе (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator - CFTR), који регулише активност натријумских канала (34).

Оштећени CFTR протеин је детектован код пацијената са цистичном фиброзом (CF) код којих носна полипоза дијагностикована у преко 50% случајева (35).

Ово обољење је аутозомно рецесивно. Треба нагласити да недостају подаци о заступљености носне полипозе код особа који су носиоци гена, али нису оболели од цистичне фиброзе.

Абнормалност у хидратацији ткива заправо је последица повећања броја отворених натријумских канала на површини ћелија епитела што за последицу има прераспodelу воде у строми полипа. Главни базични протеин (major basic protein - MBP) који ослобађају еозинофили може бити одговоран за апсорпцију натријума у строми. Протеин смањује секрецију слузи уз истовремено повећање апсорпције натријума (34,36).

Задржавање воде у екстрацелуларном матриксу је узроковано Na^+ - K^+ пумпом, која активно пумпа Na^+ јоне из ћелије и K^+ јона у ћелију, насупрот електрохемиском градијенту. Јони натријума су ванћелијски катјони, који везују воду. Поремећај рада натријум-калијумске пумпе задржава натријум у ћелији уместо у међућелијском простору (37).

Акумулација натријума и воде у екстрацелуларном матриксу полипа не може се објаснити недостатком активности пумпе. Дисбаланс воде и минерала објашњава се чињеницом да је предиспозиција за апсорпцију натријумских и хлоридних јона развијенија у епителу полипа него у епителу неизмењене слузнице носа (33).

Главне супстанце међућелијског простора одговорне за везивање воде су протеоглигани и хијалуронска киселина, преко сулфатних и хидроксилних група (38).

У екстрацелуларном матриксу назалних полипа, већина молекула воде се налази везано за хетерополисахариде хијалуронске киселине (39).

Полипозна слузница ослобађа цитокине, који повећавају ниво имунолошког одговора.

Леукотријени, простагландини, као и други медијатори инфламације су одговорни за структуралне промене у носној слузници. Инфламаторни процеси активирају леукоците, нарочито неутрофиле, који се акумулирају у подручју инфламације (40–43).

Присуство еозинофила у носној полипозии индуковано је активношћу T2 цитокина – интерлеукина (IL-3, IL-4, IL-5, IL-13), који се ослобађају из активираних Th2 лимфоцита (44).

Теорија која у фокусу има продужени ефекат хистамина, који последично доводи до повећања едема и опструкцију венске дренаже у подручју петелјке полипа је теорија вазомоторног дисбаланса (45).

Теорија руптуре епитела је заснована на руптури ламине проприје слузнице која је под дејством инфламације (инфекција, алергија) док ефекти гравитације доприносе повећању полипа.

Велики недостатак ових теорија, базираних на дифузном едему, је тај што не могу да објасне зашто се полипи развијају само у одређеним подручјима слузнице носа.

Хроничн риносинуситис без носних полипа се сматра резултатом недовољно лечене бактеријске инфекције у оквиру акутног риносинуситиса, што резултује хроничним запаљењем. Хронични риносинуситис са полипозом се сматра неинфективним поремећајем повезаним са атопијом. Хронична инфламација је заправо последица нарушеног имунског одговора и нарушених имунских механизма, који немају директне везе са инфекцијом. Ову хипотезу су подржали Ли (Lee) и сарадници (46).

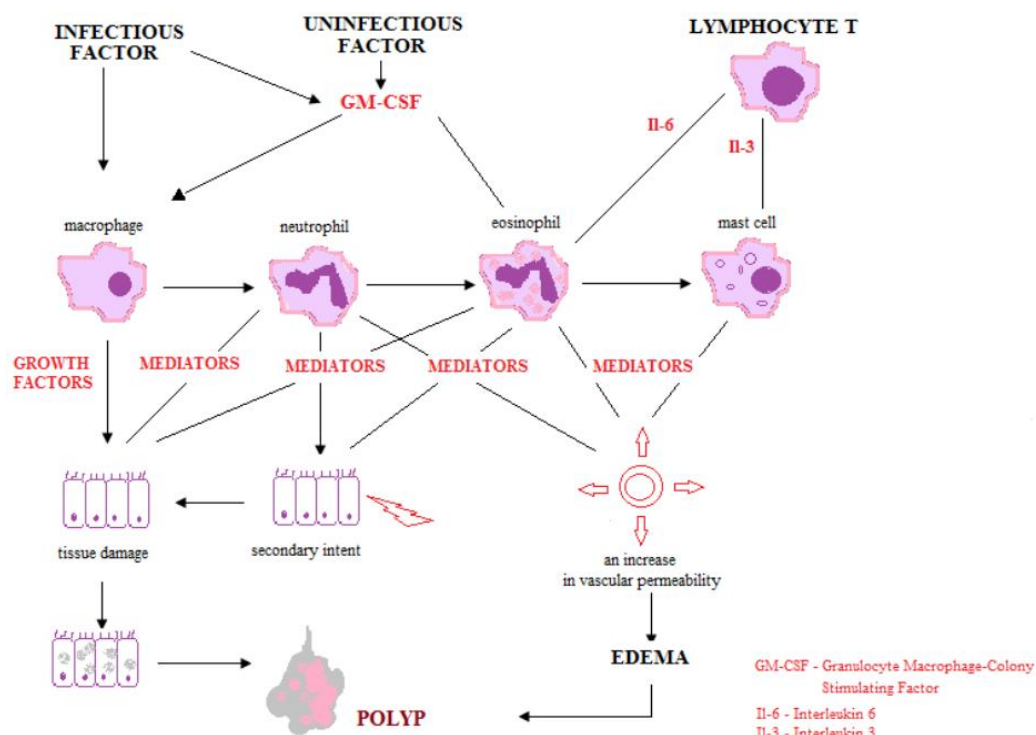
Они су потврдили експресију 114 гена у назалним полипима која је значајно другачија него у здравом ткиву. Ови гени су повезани са:

- апоптозом;
- диференцијацијом ћелија;
- ћелијском адхезијом;
- протеинима имунског одговора,
- модификацијом екстрацелуларног матрикса;
- факторима раста који регулишу ћелијски циклус.

Неки гени имају смањену експресију у назалним полипима у поређењу са контролном групом. У полипима у носу, гени са смањеном експресијом кодирају протеине одговорне за:

- транспорт;
- ћелијску комуникацију;
- везивање калцијума;
- синтезу протеина;
- синтезу цитоскелета.

Опште је прихваћено да полипи у носу настају као последице оштећења слузокоже носа. Оштећења слузнице могу бити узроковане бактеријским, вирусном агенсима као и у случајевима продуженог експонирања појединим супстанцама. Оштећена слузокожа тежи да се регенерише. Понекад, регенерација назалног епитела није потпуна. Током регенерације слузнице ослобађају се цитокини, који могу довести до формирања носних полипа. (Слика 6.)



Слика 6: Патогенеза носне полипозе

Преузето из (47).

Етиолошки чиниоци су одговорни за примарни узрок, док патогенетски фактори описују ћелијске или молекуларне путеве који воде од етиологије до клиничког фенотипа.

1.7.1 Етиологија носне полипозе

Етиологија носне полипозе и поред досадашњих сазнања, још увек је непознаница тј. не постоји јединствени став.

Како би се што боље разумели потенцијални механизми, први корак у евалуацији је свакако познавање и преглед хистолошког налаза.

Ткиво полипа показује изражену еозинофилију у већини случајева хроничног риносинуситиса са носним полипима. Ови пацијенти имају изражени Т2 посредовани имунски одговор, који је раније био познат под именом Т- helper 2 (Th2), с обзиром да су главне ћелије имунског система укључене у њега Т помагачки 2 (Т helper 2 – Th2) лимфоцити. У овом типу имунског одговора интерлеукин 4 (IL-4), IL-5 и IL-13 представљају кључне цитокине, а студије са реверзном транскриптазом PCR (RT-PCR) показују повећане вредности mRNA за сваки од ових медијатора у ткиву назалних полипа (48,49). Сматра се да су леукотријени једнако битни у прогресији Т2 посредованог пута, ткивне еозинофилије и носне полипозе.

Атопијске болести, наследни и поремећаји у метаболизма леуктријена, имунски одговор на гљивице, као и стимулација бактеријским суперантигенима су испитивани као могући покретачи снажне Т2 посредоване инфламације. Такође, постоје многа истраживања на тему дефекта у мукозној баријери, који може допринети подложности наведеним узрочницима.

Битно је нагласити да се „типични“ еозинофилни полип разликује од антрохоаналног полипа и полипа из подгрупе хроничног риносинуситиса са носним полипима где је доминантно присутна неутрофилна инфламација, као и Т1 имунски одговор. Различите епидемиолошке студије су показале да преко 90% европске и северноамеричке популације има доминантан еозинофилни тип инфламације и Т2 имунски одговор везан за носну полипозу, док мање од 10% Европљана и становника Северне Америке има доминантан Т1 имунски одговор и неутрофилију у носним полипима. Са друге стране, неки далекоисточни народи (Кина, Кореја, Јапан, земље Индокине) чешће испољавају неутрофилну него еозинофилну инфламацију у оквиру носне полипозе (48,49).

Данас је актуелно неколико теорија о настанку носне полипозе: бактеријске инфекције, инфламација покренута бактеријским суперантигенима, гљивично запаљење, генетски фактори (цистична фиброза, примарна цилијарна дискинезија) и преосетљивост на аспирин и друге нестероидне антиинфламаторне лекове (НСАИЛ).

1.7.2 Улога системске атопије

Еозинофилна инфламација у носној полипозу, астми и алергијском ринитису се манифестује сличним карактеристикама, поготово када је у питању њихово коморбидно присуство. Процењује се да 38-67% пацијената са носном полипозом који захтева функционалну ендоскопску операцију синуса (FESS) има истовремено присутно и специфичних имуноглобулина Е (IgE) у крви и, у складу с тим, посредовану алергијску реакцију на неки спољни фактор (50). Анализа ткива носних полипа, применом „enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)“ тестова показује повишене вредности еозинофилног катјонског протеина (ECP), еотаксина, IgE и IL-5 у поређењу са ткивом здраве носне слузнице и ткивом носне скузнице пацијената са хроничним риносинуситисом без носних полипа (49).

1.7.3 Поремећај у метаболизму леукотриена

Испитивање пацијената који имају НСАИЛ индуковану респираторну болест (NSAID-exacerbated respiratory disease, or aspirin-exacerbated respiratory disease, or ASA triad, or Samter's triad) је довело и до истраживања улоге коју леукотријени имају у хроничном риносинуситису са носним полипима. Леукотриени (LTC₄, LTD₄ и LTE₄) представљају три продукта липооксигеназног пута метаболизма арахидонске киселине, који је посредован активношћу ензима 5-липооксигеназе. Арахидонска киселина се ослобађа из ћелијске мембране активношћу ензима фософлипаза А2. Ови леукотриени изазивају инфламацију слузнице, бронхоконстрикцију, микроваскуларно пропуштање и

мукозну секрецију кроз њихов утицај на епителне и мукозне ћелије, као и леукоците. Други пут којим се метаболише арахидонска киселина укључује активност циклооксигеназе, са простагландинима и тромбосанима као крајњим продуктима. С обзиром да је аспирин иреверзибилни инхибитор циклооксигеназног пута, изложеност аспирину повећава субстрат доступан липооксигеназној активности, што резултира у повећаној синтези леукотриена. Претпоставља се да пацијенти са интолеранцијом аспирина и осталих НСАИЛ имају већу склоност ка запаљењу слузнице горњег и доњег дисајног пута, управо због повећане активности ензима укључених у стварање леукотриена, као и прекомерног испољавања леукотриенских рецептора. Иако су концентрације леукотриена у ткивима носне слузнице повишене у хроничним запаљењима различитих етиологија, пацијенти са интолеранцијом аспирина испољавају највише нивое ових медијатора, што се додатно потенцира применом аспирина у терапијске сврхе (51). Експресија леукотриенских рецептора је појачано испољена и у епителу и строми полипа, у поређењу слузницом у контролним узорцима (52). Ова особина је била присутна како у пацијената са, тако и без осетљивости на аспирин (53). Такође, *in-vitro* студије су откриле да IL-4, IL-5 и IL-13 повећавају експресију леукотриенских рецептора тип 1 у еозинофилима (54). На основу свега закључујемо да стимулација продукције леукотриена може бити кључни корак у Т2 посредованој каскади, што је од великог значаја у генези назалних полипа. Овај одговор је свакако додатно појачан код пацијената који су интолерантни на аспирин и друге НСАИЛ.

1.7.4 Имуни одговор на гљивице

Развој носних полипа у алергијском гљивичном синуситису (allergic fungal sinusitis - AFS) је до сада добро испитан и релативно добро објашњен. Хронична осетљивост на гљивице рода *Dematiaceous* је повезана са назалним полипима, опструкцијом остиомеаталног комплекса и хроничним синуситисом. Првобитно се сматрало да имунолошки одговор укључује тип I, III и/или тип IVa преосетљивости, који су такође описани и у алергијској бронхопулмоналној аспергилози. Скорије студије, међутим, су наговестиле да је AFS доминантно посредован еозинофилима и да су IgE-непосредовани механизми Т2 стимулације најважнији (посебно продукција IL-5).

Део еозинофилног одговора на гљивице, доминантно из групе *Alteranaria*, може бити одговоран за хронични риносинуситис, где AFS једино рефлектује последњи стадијум у развоју болести (55).

Дакле, иако је могуће да је имуни одговор на гљивице одговоран за развој полипа, директна веза између гљивица и носне полипозе тек треба да се докаже.

1.7.5 Теорија суперантигена

Активно подручје истраживања патофизиологије хроничног риносинуситиса обухвата и улогу имуноског одговора на ентеротоксине *Staphylococcus aureus*-а, нарочито ентеротоксина В (*Staphylococcus aureus* enterotoxin В - SEB). Ови протеини, код осетљивих пацијената имају могућност да функционишу као „суперантигени“, тј.

способни су да стварају укрштене везе између II класе главног комплекса хистокомпатибилности антиген-презентујућих ћелија и бета-ланца варијабилног региона T ћелијског рецептора. Сматра се да ово резултира снажном продукцијом T2 цитокина као што су IL-4, IL-5, IL-13 и хемокина, као што су еотоксин 1, 2 и 3, RANTES (regulation on activation, normal T cell expressed and secreted – RANTES) и други, што предиспонира развој полипа код ових пацијената (56). У значајном броју пацијената, специфичност T ћелијског рецептора у варијабилном бета региону је нагињао ка оном специфичном за *Staphylococcus aureus* суперантигене. Ови подаци су касније потврђени и од стране других аутора укључујући тиме суперантигене *Staphylococcus aureus*-а у стимулацију развоја инфламаторног одговора који на крају доводи до настанка носне полипозе (57).

1.8 Абнормалности мукозног имунитета

1.8.1 Toll-like рецептори (TLR)

Toll-like рецептори (TLR) представљају групу рецептора „за препознавање“ који су везани за мембрану и за које се сматра да имају улогу у природном имунитету слузнице. Код људи разликујемо тринаест различитих TLR. У носно-синусном подручју ови рецептори учествују у механизму природне антимицробне одбране епителијалних ћелија слузнице, где реагују на одређену врсту лиганда. На пример, TLR3 се веже дуплим везама за RNK (као и вируси) док се TLR 4 веже за полисахариде. Реверзна транскриптаза PCR тест открива да су mRNK за TLR, као и кључни цитокини детектовани у слузници етмоидалних ћелија, како контролних група, тако и групе са носном полипозом. У поређењу са контролним групама, група са носном полипозом је повезана са значајно већом експресијом TLR2 рецептора и инфламаторног гена макрофага (инфламаторни протеин алфа), као и стимулишућег фактора гранулоцитно-макрофагних колонија (granulocyte macrophage – colony stimulating factor – GM-CSF). Пацијенти са рекурентним полипима постоперативно имају значајно нижу експресију TLR2 (који се веже за Грам позитивне пептидогликане) и TLR9 (који се веже за C-G DNK), као и вишу експресију макрофагног инфламаторног протеина алфа (macrophage inflammatory protein-alpha – MCP- α) (58). Ова опажања свакако наговештавају да дефекти у функционисању мукозне баријере могу бити повезани са развојем полипа.

1.8.2 Матриксне металопроотеиназе (MMP)

Матриксне металопроотеиназе (matrix metalloproteinases – MMP) обухватају групу цинк-зависних ендопептидаза, ензима које разграђују екстрацелуларни матрикс и представљају могући узрочник развоја едема ткива код хроничног риносинуситиса са носним полипима. Студија спроведена 2007. године је користећи RT-PCR установила да је експресија MMP-2, MMP-9 и ткивног инхибитора матрикс металопротеиназа (TIMP-1) mRNK у вези са експресијом IL-5 и IL-8. Подаци наводе експресију MMP-9 и IL-5 mRNK у ткиву полипа. Веза између IL-5 и TIMP - 1 је такође описана, указујући тиме на улогу TIMP-1 у одржавању хомеостазе у носним полипима (59).

1.8.3 Други епителијални гени

SPINK (serine protease inhibitor kazal-type) 5 представља епителијални серин протеоазни инхибитор који се повезује са алергијским болестима и верује се да има важну улогу у балансу инфламаторног ефекта мастоцита на епителијалну баријеру. Алергени често поседују серин протеазну активност, а смањена експресија антипротеаза, као што је SPINK 5 утиче на већу осетљивост ка атопији. Подаци скупљени од стране Рихера (Richer) и сарадника указују на смањену експресију SPINK5 у ткиву пацијената са хроничним риносинуситисом са и без носних полипа. Имунохистохемија је такође указала на смањену експресију SPINK 5 у полипозном ткиву у поређењу са експресијом у носној слузници здравих испитаника (60).

Фамилија протеина S100 је део епидермално - диференцирајућег комплекса (EDK) смештеног на 1. хромозому (1q21). Ова група епителијалних гена је битна како за антимикробне, тако и за имунорегулаторне функције. Подаци такође указују и на нисходну регулацију mRNK за S100A7, C100A8 и C100A9 у хроничном риносинуситису што, теоријски, може бити узрок смањеног пролиферативног и неодговарајућег регенеративног капацитета респираторог епитела. Ово би, хипотетички, могло бити узрок смањеног ефекта механичке баријере, уз последично наглашен значај сензитивности и инфламаторног одговора на разне егзогене факторе (61).

Велики број истраживања је пратио улогу активнишег фактора В ћелија – породице тумор некроза фактора (TNF) (BaFF). У питању је цитокин који има значајну улогу у регулацији промене класе продукција имуноглобулина. Митохондријална BaFF RNK је била значајно увећана у ткиву пацијената са назалним полипима у поређењу са здравим испитаницима. Експресија mRNK за BaFF се нашла у значајној корелацији са маркером CD20 В лимфоцита, као и у корелацији са нивоом IgA (60). Ови подаци сугеришу да хиперпродукција BaFF у носној слузници доприноси патогенези носне полипозе преко локалне индукције IgA и активације еозинофила (62).

Претходне тврдње наглашавају улогу коју дисрегулација нативних одбрана слузнице има у преосетљивости на антигене, сензитивност, као и абнормални инфламаторни одговор. Резултати истраживања наговештавају улогу вишеструких (могуће коегзистирајућих) имунолошких неправилности које могу бити укључене у развој назалних полипа, што свакако доводи до закључка да су назални полипи инфламаторна, а не инфективна болест.

1.8 Протеини топлотног шока (Heat shock proteins - HSP)

Протеини топлотног шока (Heat Shock Proteins – HSP) обухватају групу протеина чија је продукција у ткивима индукована излагањем организма високим температурама. HSP60, HSP70, HSP80, HSP90 припадају породици протеина који су означени бројевима према молекулској маси. Излагање високим температурама, али и друге стресне ситуације индукују ћелије на продукцију ових протеина важних за

одржавање целуларог интергритета и виталности. Први пут су описани након излагања организма топлоти, али сада знамо да продукција велике количине HSP настаје и као последица експозиције различитим врстама стреса као што су инфекција, инфламација, физичка активност, излагање токсинима (етанол, асреник, тешки метали), ултраљубичастом зрачењу, гладовање и хипоксији. Међутим, HSP се продукују у ткивима и у одсуству стресног стимулуса.

Важна заштитна улога ових протеина први пут је верификована 1962. Италијански генетичар Ритоса (Ritossa) је уочио да код винске мушице, *Drosophila*, као одговор на излагање сублеталној дози топлоте, долази до “надувавања” хромозома услед појачане транскрипције непознатог протеина. Ово је касније описано као „ heat shock “одговор, а протеини су названи “heat shock протеини” (HSP)(63).

Фамилија протеина топлотног шока означена као HSP70 има молекулску масу од 70 kDa. HSP70 су мономерни протеини који се налазе у било ком еукариотском интрацелуларном одељку који садржи аденозин-5'-трифосфат (АТФ) и могу се наћи како унутар ћелије тако и у екстрацелуларном простору. Људи кодирају најмање четрнаест HSP70 хомолога, од којих су два специфична за органеле, док се преосталих шест налазе у цитосолу и језгру ћелије. Основна улога протеина из ове групе је да као пратиоци (chaperon) мотре на ћелијске протеине. Они стабилизују новоформиране протеине осигуравајући им коректно склапање, превенирају денатурацију протеина и некоректну агрегацију полипептида, те помажу ремоделовање протеина током експозиције физичко - хемијског стреса. Драматично повећање продукције HSP је кључни део „ heat – shock “ одговора и примарно је индуковано “heat shock” фактором. HSP су пронађени у свим прокариотима и еукариотима (64).

HSP70 може да ублажи интензитет и ефекте оксидативног стреса у ткивима. Хомеостаза се ослања на равнотежу између реактивних кисеоничних врста и антиоксидативног система. Хомолози HSP70 су важне антиоксидативне компоненте у елиминисању оштећених оксидисаних протеина и подржавају антиоксидативне ензиме. Током оксидативног стреса, HSP70 пролазе кроз оксидацију, што доводи до промена у њиховој структури и активности пратиоца (чаперона). Међутим, модификације молекула цистеина често смањују активност пратиоца HSP70, што има неповољан ефекат у репарацији оштећених протеина услед оксидације. HSP70 може деловати на појачавање преноса сигнализације на шири спектар протеина, постижући већи антиоксидативни потенцијал за краће време и обнављање ћелијског окружења. Као последица тога, HSP70 протеини се ослобађају много брже кроз различите сигналне путеве, а новосинтетисани протеини HSP70 имају нормалну активност пратиоца и могућност да се носе са оштећеним протеинима који су акумулирани током оксидативног стреса (65). Може се закључити да ови протеини представљају еволутивно једну од најконзервиранијих породица људских протеина. Да би сачували различите ћелијске функције, нарушене стресом, протеини HSP70 функционишу као машине за одвијање које покреће АТФ и које су способне да померају полипептиде супстрата између различитих стања савијања. Након излагања различитим стресорима, HSP70 су у стању да се вежу за погрешно савијене протеине и спрече њихову агрегацију. У складу са овим својствима, неколико истраживања је укључило HSP70 у широк спектар болести.

Функција HSP у имуности је заснована на њиховој способности да вежу, не само целе протеине већ и пептиде. Треба истаћи да су афинитет и специфичност ове

интеракције мали. HSP могу стимулирати имунорецепторе и важни су у адекватном склапању протеина укључених у проинфламаторне сигналне путеве. Такође су укључени у презентацију антигена, функцију стероидних рецептора, везивање за нуклеарне рецепторе и апоптозу што недвосмислено указује да су укључени у бројне ћелијске сигналне путеве (66).

1.8.1 Интрацелуларни HSP70

У хуманој популацији фамилију HSP70 чини велики број подтипова који се међусобно разликују по нивоу експресије, субћелијској локацији и саставу аминокиселина. Кодира их мултигенска породица која обухвата 17 гена и 30 псеудогена (67). Главни HSP70 изазвани стресом обухватају HSP70-1 (HSPA10-2) и HSPA1B), а разликују се само по две аминокиселине.

HSP70-5 је експримиран у ендоплазматском ретикулуму, олакшавајући транспорт и савијање насталих полипептида у лумен ендоплазматског ретикулума (68). HSP70-6 је додатни члан породице изазван стресом који је високо хомологан са HSP70-1 и нема уочљив ниво базалне експресије у већини ћелија (69). Хумани HSP70-7 је ефикасан и строго регулисан промотер, чија продукција може бити изазвана стресом услед недостатка материја које исхрањују ћелију. HSP70-8 је сродни члан породице HSP70 који показује есенцијалне функције одржавања као што су савијање и транспорт полипептида кроз интрацелуларне мембране и у приближно 86% састава молекула се поклапа са HSP70-1. HSP70-9 се налази у митохондријима и показује 52% идентитета са HSP70-1. HSP70-12A је присутан у мозгу, бубрезима и мишићима. HSP70-12B је специфично експримиран у ендотелним ћелијама, што указује на његов допринос патогенези процеса повезаних са ендотелијумом. HSP70-13 представља члана породице HSP70, који је повезан са микрозомима и конститутивно је експримиран у свим типовима људских ћелија. HSP70-14 је изведен из људских дендритских ћелија, са моћним адјувантним ефектима који поларизују одговоре у оквиру T1 имунског одговора. Повећана експресија HSP70-14 је недавно пријављена у туморским ткивима пацијената са раним стадијумом хепатоцелуларног карцинома повезаним са вирусом хепатитиса В (70).

1.8.2 Екстрацелуларни HSP70

HSP70 је преобладајући интрацелуларни протеин. Његова најважнија улога у инфламацији је да осигура цитопротекцију инхибирајући компоненте инфламаторних сигналних путева као што је нуклеарни фактор капа бета (NF- κ B) транскрипциони фактор. Екстрацелуларно, HSP70 је присутан као резултат активне секреције или пасивног ослобађања из оштећених ћелија. Повећане количине екстрацелуларног HSP 70 стимулишу инфламаторни одговор преко "tool-like receptor 2" (TLR2)/TLR4/CD14-зависног механизма који води ка активацији NF- κ B и продукцији TNF- α , IL1- β и IL-6. Са друге стране, резултати других аутора показују да HSP70 може имати и антиинфламаторну улогу инхибицијом продукције проинфламаторних цитокина. Овај феномен је од стране Чена и аутора (Chen et al.) (59) назван "heat shock парадокс" тако да имуностимулишућа активност HSP70 преко TLR2 и TLR4 остаје предмет

контроверзи. Различити HSP70 се селективно експримирају на површини вирусом и бактеријама инфицираних ћелија или на туморским ћелијама (69). Екстрацелуларни HSP70 постоје у слободном растворљивом облику, у комплексу са антигенским пептидима или повезани са егзозомима (44). Механизми ослобађања HSP70 преко интактне ћелијске мембране у ткивима још нису довољно истражени (70). Разматрани су различити механизми, укључујући егзозомално ослобађање, ослобађање преко микродомена у ћелијској мембрани богатих холестеролом, ослобађање HSP70 у оквиру секреторних ендолизозома, као и пасивно ослобађање након смрти ћелије услед некрозе. У овом контексту, откривено је да се HSP70-1, иако нема трансмембрански домен, налази на површини ћелије тумора, али не и на нормалним ћелијама, користећи моноклонско антитело cmHSP70.1 (71,72).

Прекомерна експресија HSP70 је нађена у туморским ћелијама и њиховом окружењу, где су ћелије изложене разним врстама стреса укључујући и повишен ниво оксидативног стреса, недостатак хранљивих материја, хипоксију и повећана експресија мутантних протеина. Ови фактори стреса играју централну улогу у започињању и прогресији рака (50) као и већој експресији HSP70. Повећана експресија забележена је код хепатоцелуларни карцинома (51), рака грлића материце (73) и акутне мијелоидне леукемије (74).

Повећана експресија HSP70 код пацијената са развојем и прогресијом рака указује да се HSP70 може користити као дијагностички биомаркер који указује на лошу прогнозу болести(75–77).

1.9 Еозинофилни катјонски протеин (ЕСР)

Еозинофилни катјонски протеин (eosinophil cationic protein - ЕСР), познат још и као рибонуклеаза 3, је протеин активираних еозинофила. Ослобађа се дегранулацијом истих и има цитотоксична, неуротоксична, имунорегуаторна, антивирална, антибактеријска и антипаразитна својства. За потребе овог истраживања важно је подвући његову цитотоксичну улогу према таргет ткивима домаћина, с обзиром да је још 1989. доказано да оштећује ћелије респираторног система *in vitro*. Наваро и сарадници (Navarro et al.) (78) су описали да механизам цитотоксичности ЕСР почиње његовим везивањем и агрегацијом за ћелијску површину, наставља се мењањем пермеабилности ћелијске мембране и модификовањем јонског еквилибријума. Резултат су морфолошке и биохемијске промене ћелије као што су кондензација хроматина, асиметрија мембране, стварање слободних радикала и последично ћелијска смрт (78).

Од открића ЕСР, 1977. године, он се користи као биомаркер за процену еозинофилне активности у различитим инфламаторним обољењима и његова вредност се може квантификовати у серуму, плазми и носном секрету.

У многим ткивима постоји урођени основни ниво еозинофила и одређени стимулуси узрокују повећану продукцију и инфлукс еозинофила у различите органе. Утврђено је да ниво ЕСР у ткивима и периферној крви корелира са бројем присутних еозинофила што индикује да је улога ЕСР кључна за функцију еозинофила. Највећа количина ЕСР се ослобађа када еозинофили напусте циркулацију. Неколико типова инфламаторних стимулуса доводи до еозинофилне дегранулације: интеракција са

адхезионим молекулима, стимулација леукотријенима (LTB₄), фактор активације тромбоцита (PAF), интерлеукин IL-5, имуноглобулини и фактори комплемента C5a и C3a (79).

Најчешћа обољења удружена са еозинофилијом и повишеним нивоом ЕСР су она удружена са атопијом и Т2 имунским одговором. Цитокини као што су IL-5 или хемокини као што је еотаксин се продукују у повећаној количини и привлаче еозинофиле у носну слузницу. Међутим, повишен ниво ЕСР се може наћи и у обољењима у чијој основи се не налази Т 2 имунски одговор, нпр. у стањима јаке бактеријске инфекције, мада ту доминантну улогу имају неутрофилни гранулоцити (79).

1.10 Супстанца Р

Супстанцу Р (substance P) открили су Еулер и Гадум (Euler and Gaddum) 1931. год., након што је примећено да прашкасти суви остатак коњског мозга показује хипотензивну (повећава крвни притисак) и спазмогену (сужава крвне судове) активност. Пошто је препарат био у облику прашка и растварао се у води, назван је препарат Р, а потом супстанца Р. Почетком седамдесетих година прошлог века дошло се до сазнања да је супстанца Р неуропептид кога чини 11 аминокислина у пептидном ланцу. Супстанца Р производе неуронске, соматске и ћелије имунског одговора. Супстанца Р је члан породице неуропептида тахикинина (tachykinins - TAC) и кодиран је TAC1 геном. Код људи, главни TAC гени сисара су TAC1, TAC3 и TAC4. Хумани TAC1 ген се састоји од седам егзона и који кодира супстанцу Р. Познато је да супстанца Р испољава своју биолошку активност преко неурокининских рецептора и то доминантно преко неурокинин 1 рецептора (NK1R), али и преко NK2R и NK3R. Супстанца Р је у великој количини присутна у централном нервном систему, али и у периферном нервном систему. Када се једном синтетише, супстанца Р се транспортује у великим везикулама са густим језгром и пептид се ослобађа процесом егзоцитозе. Овако слободан молекул веже се за рецептор ћелије (на пример за NK1R). NK1R сигнализација укључује фосфорилацију С-терминалног домена NK1R помоћу G-протеин-спрегнутих рецептор киназа, што резултује интеракцијом NK1R са β-арестин адаптерским протеинима. β-арестин игра централну улогу у десензибилизацији ћелија на сигнализацију молекулом супстанце Р. Код људи, две природне изоформе NK1R налазе се у типовима неуронских и имуних ћелија. Супстанца Р и њен рецептор NK1R су добро експримирани у различитим типовима имунских ћелија. Студије су показале висок ниво експресије рецептора NK1R за супстанцу Р у мастоцитима који су присутни у слузници носне шупљине, док, рецимо, хумани мастоцити у слузници цревног тракта не реагују на супстанцу Р, јер не експримирају било који од три NK1R у хомеостатском стању. Такође, резултати истраживања сугеришу да супстанца Р може да делује на мастоците на NK1R- независан и NK1R-зависан начин. Треба нагласити да постоји двосмерни сигнал између мастоцита и нерава који експримирају супстанцу Р. Са једне стране супстанца Р делује на мастоците у смислу стимулације на продукцију TNF-α (tumor necrosis factor alpha) и фактор раста васкуларног ендотела (vascular endothelial growth factor – VEGF), као и на дегранулацију мастоцита, којом се ослобађа хистамин. Овај механизам се углавном среће код пацијената са алергијским ринитисом. Са друге стране, мастоцити могу да отпуштају ензим триптазу, који активира рецептор-2

активиран протеазом на неуронима и посредује у ослобађању супстанце P, што може да изазове неурогено запаљење у ткиву носне слузнице/параназалних синуса. Супстанца P је присутна у еозинофилима, као и њени рецептори на ћелијској мембрани еозинофила. Активација еозинофила помоћу супстанце P изазива њихову дегранулацију и ослобађање кисеоника. Еозинофили изоловани од пацијената са атопијским дерматитисом експримирају више нивое NK2R, али не и NK1R, на нивоима mRNA и протеина. Такође се показало да супстанца P има хемотактички ефекат на еозинофиле код пацијената са атопијским дерматитисом, што сугерише да еозинофили могу да пропагирају циклус свраба у атопијским стањима преко супстанце P. Стимулација неутрофила супстанцом P изазива производњу супероксида и доводи до повећаног нивоа интрацелуларног Ca. Супстанца P појачава фагоцитну активност неутрофила и регулише прилив неутрофила у запаљена ткива. Моноцити/макрофаги и код људи и код глодара експримирају супстанцу P и њен рецептор NK1R. Стимулација моноцитно-макрофагног система преко ових рецептора доводи до повећане фагоцитне активности. Имунохистохемијом је демонстрирано присуство неколико неуропептида у сензорним нервним влакнима која инервишу носну слузницу. Та влакна су присутна испод и унутар епитела, око крвних судова и жлезда. Заправо је слузница носне шупљине и параназалних синуса густо инервисана сензорним живцима која ослобађају бројне неуропептиде (Calcitonin gene-related peptide - CGRP, substance P, NKA). Супстанца P је члан породице тахикинина који су снажни вазодилататори, док са друге стране снажно стимулишу контракцију глатких мишићних влакана. У студијама на дисајним путевима глодара, супстанца P је означена као неуротрансмитер који посредује у ексцитаторном делу неадренергичног нехолинергичног (non-adrenergic non-cholinergic - NANC) нервног система, где доводи до контракције глатке мускулатуре, стимулације секреција у жлездама субмукозе, до вазодилатације и повећане васкуларне пермеабилности. Године 1967. је први пут коришћен термин „неурогена инфламација“ да се опише повећана васкуларна пропустљивост, екстравазација плазме, као и оток ткива који настаје услед изоловане стимулације сензорних нерава иритансима као што су капсаицин, хипертони слани раствори и слично (80). Супстанца P секретују C-влакна, али и инфламаторне ћелије попут макрофага, еозинофила, лимфоцита и дендритичних ћелија, а дејство испољава везивањем за рецептор за неурокинин-1 (NK-1R). Докази који подржавају значај Супстанце P у патофизиологији инфламаторних обољења носне слузнице потичу из уочавања повишених концентрација супстанце P и пептидергичких нервних влакана у упаљеном ткиву, повишене експресије NK-1R рецептора у упаљеном ткиву и на основу верфикације терапијског дејства антагониста NK-1R рецептора у животињским моделима инфламаторних болести носне слузнице. Супстанца P индукује ослобађање инфламаторних медијатора као што су хистамин, цитокини и деривати арахидонске киселине. Супстанца P изазива локалну вазодилатацију и мења васкуларну пропустљивост, чиме се побољшава испорука и акумулација леукоцита у таргет ткивима на месту инфламације. Треба напоменути и значајну улогу супстанце P у смиривању инфламације. Докази о укључености супстанце P у репарацију ткива потврђене су студијама које су проучавале њен пролиферативни ефекат на различите ћелије. Резултати тих студија сугеришу да супстанца P делује као митоген за ћелије глатких мишићних влакана, фибробласте, ендотелне ћелије и синовиоците (81).

1.11 Триптазе

Мастоцити (гранулоцити периферних ткива), имају централну улогу у запаљенским и алергијским реакцијама. У мастоцитима се налазе два типа медијатора запаљенске реакције. Преформирани медијатори су већ присутни у мастоцитима и у њих убрајамо хистамин, протеогликане (хепарин, хондроитин сулфат) и неутралне протеазе (триптаза), које се ослобађају по активирању мастоцита. Новосинтетисани медијатори су одсутни када мастоцити нису активни и у њих убрајамо метаболите арахидонске киселине (леукотријени, простагландини) и различите цитокине (TNF- α , IL-4, IL-5 и IL-6), а који се продукују током IgE посредоване активације. Екстрацелуларно ослобађање медијатора је познато као дегранулација, може бити индуковано физичким факторима (механичка траума, висока температуре), токсинима, отровима, ендогеним медијаторима (протеинима, ткивним протеазама) и имуним механизмима (IgE зависним и IgE независним). Додатно, као део урођене имуности, механизмом који је независан од стварања антитела, мастоцити ослобађају TNF- α као одговор на бактеријске продукте (82).

Постоје два типа триптаза: α -триптаза и β -триптаза. У секреторним гранулама мастоцита се налази β II-триптаза, а α -протриптаза се физиолошки/урођено секретује из мастоцита као инактивни проензим и главни је облик триптазе пронађене у крви код здравих особа. β -триптаза се ослобађа у киселим срединама као што су поља слабе прокрвљености или инфламације. Триптаза има способност да деградира/цепа неке екстрацелуларне молекуле као што су вазоактивни интестинални пептид, пептид сродан калцитонину, фибронектин и кининоген. Такође је потентан фактор раста за епителијалне ћелије, глаткомишићне ћелије дисајног пута и фибробласте. Током инфламације, триптаза стимулише ослобађање хемоатрактанта за гранулоците (IL-8) и повећава експресију рецептора ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) на епителијалним ћелијама. Индукује експресију mRNA за IL-1 β , што може бити важно за инфлукс инфламаторних ћелија на места активације мастоцита. Додатно, ослобађање триптазе из активираних мастоцита може стимулирати секрецију из суседних мастоцита, чиме се обезбеђује амплификација запаљенског процеса. Триптаза активира протеазом активираних рецептора тип 2 (PAR-2). PAR се налазе на епителијалним ћелијама и глатким мишићним ћелијама респираторног тракта, ендотелијалним и васкуларним глатким мишићним ћелијама, епителу терминалних бронха, типу II пнеумоцита и мастоцитима респираторног тракта. Триптаза стимулише ослобађање бронходилататора и антиинфламаторних медијатора (82).

1.12 Протеин Клара ћелија 16 (Clara cell protein 16 – CC16)

CC16 је протективни протеин који, као одговор на оксидативни стрес и запаљење, секретују специјализоване секреторне Клара ћелије без трепљи, смештене у респираторном епителу горњег и доњег дисајног пута. CC16 је мали антиинфламаторни протеин мале молекулске масе (око 16 kDa). Овај протеин детерминише ген који се налази у региону P12-q13 хромозома 11 који је укључен у регулацију запаљењских процеса. У *in vitro* условима, CC16 модификује секрецију и активност различитих

медијатора запаљенског одговора, пре свега тако што смањује активност проинфламаторних ензима фосфолипазе А2 (PLA2) и трансглутаминазе који су веома важни за производњу и ослобађање арахидонске киселине током еозинофилног запаљења респираторне слузнице(83,84). Различити цитокини и хемокини регулишу експресију СС16 у носној слузници модулирајући ткивну експресију mRNK. Постоји динамична равнотежа између локалне производње потентног еотаксина-2 и СС16, која је поремећена код пацијената са хроничном еозинофилном упалом носне слузнице (85). Обрнута корелација која постоји између локалне продукције еозинофилних хемокина и СС16 је веома важан механизам за развој хроничне упале. Потентни еозинофилни хемокин еотаксин 2 доводи до великог инфлуksа еозинофила у слузницу синоназалне регије. Привучени и активирани еозинофили, заузврат, привлаче нове еозинофиле синтетишући још веће количине еотаксина. Активирани еозинофили ослобађају велике количине ЕСР и других токсичних ензима који утичу на носни респираторни епител, укључујући и Клара ћелије, што онда доводи до ниже производње СС16. Насупрот томе, СС16 својим антиинфламаторним дејством инхибира привлачење еозинофила, њихову активацију и продукцију Т2 цитокина (IL-4, IL-5, IL-13) (86). Дакле хронично еозинофилно запаљење горњих дисајних путева, смањује производњу СС16 у носној слузници, а осим у носном секету, смањена је концентрација СС16 и у плазми пацијената који се лече од астме, алергијског ринитиса и хроничног риносинуситиса са или без назалних полипа. Интраназална примена кортикостероида директно потискује локално еозинофилно запаљење и стимулише локалну производњу СС16 (87). У складу с тим, СС16 може бити поуздан биомаркер ефикасности топикалних кортикостероидних лекова у лечењу хроничних запаљења носне слузнице и функционалног опоравка носне слузнице након примене локалних кортикостероида (88–94).

2 Циљеви и хипотезе истраживања

2.1 Циљеви истраживања

1. Испитати концентрацију HSP70 у носном секрету пацијената са неалергијском и алергијском формом носне полипозе.
2. Испитати концентрације параметара функције еозинофила (ECP), мастоцита (триптаза), активности респираторне слузнице (CC16) и неурогене инфламације (супстанца P) у носном секрету пацијената оболелих од алергијске и неалергијске форме носне полипозе.
3. Испитати корелацију вредности HSP70 и медијатора инфламације (ECP, триптаза, CC16, Супстанца P) у носном секрету пацијената, као и корелацију са клиничким параметрима степена проширености болести.
4. Испитати корелацију између концентрација параметара активности еозинофила, мастоцита, активности респираторне слузнице и неурогене инфламације у носном секрету пацијената са клиничким параметрима степена проширености болести.

2.2 Хипотезе истраживања

1. Концентрације HSP70 су у позитивној колерацији са нивоом ЕСП и триптазе, а у негативној корелацији са концентрацијом СС16 и супстанце Р у носном секрету код алергичних и код неалергичних пацијената са носном полипозом.
2. Концентрација СС16 у носном секрету је у негативној корелацији са тежином клиничке слике и клиничким параметрима степена проширености носне полипозе.
3. Вредност HSP70 у носном секрету пацијената је у позитивној корелацији са тежином клиничке слике оболелих од носне полипозе, као и са клиничким параметрима степена проширености болести.

3 Материјал и методе

3.1 Дизајн студије

Студија је била дизајнирана као студија пресека (cross-sectional study).

3.2 Испитаници

Студија је обухватила 60 пацијената са носном полипозом, који су одређени за ендоскопско хируршко лечење, а који су лечени у Клиници за оториноларингологију ВМА у периоду октобар 2018. – септембар 2019. године, као и 30 испитаника са клинички здравом носном слузницом (контролна група). Истраживање је спроведено у складу са одлуком Етичког одбора ВМА, у складу са принципима Добре клиничке праксе и Хелсиншке декларације.

Током укључивања испитаника у студију обезбеђен је писани добровољни пристанак испитаника уз пуну обавештеност о дијагностичким и терапијским процедурама, као и о циљевима истраживања.

Основни критеријум за укључивање у студију је била дијагноза носне полипозе, постављена у складу са критеријумима датим у *International Consensus Statement on Allergy & Rhinology: Rhinosinusitis* и водичем које је објавило Европско ринолошко удружење (European Rhinologic Society) из 2016. и 2020. године (91,95). Пацијенти би били сврстани у три групе, на основу клиничког и алерголошког (атопијског) статуса: 31 пацијент са неалергијском формом носне полипозе (Група 1), 29 пацијент са алергијском формом носне полипозе (Група 2) и 30 испитаника са клинички здравом носном слузницом, који су били одређени за хируршку корекцију деформисаног носног септума (контролна група).

Дијагноза хроничног риносинуситиса са носном полипозом, била је постављена на основу анамнезе, клиничке слике, основног физикалног прегледа (предње и задње риноскопије), ендоскопије носа и компјутеризоване томографије (СТ) параназалних синуса урађене у короналним, аксијалним и сагиталним пресецима (91,95).

Критеријуми за искључивање из студије: особе млађе од 18 година и старије од 65 година, пацијенти са бронхијалном астмом, са преосетљивошћу на НСАИЛ, са системским болестима које захватају слузницу горњег дисајног пута, са дијабетесом, труднице и дојиље, као и испитаници који су добијали кортикостероиде, антибиотике, антихистаминике и антагонисте леукотриенских рецептора унутар три недеље пре започињања истраживања.

3.3 Алерголошко тестирање

Сви испитаници су подвргнути кожном PRICK тестирању преосетљивост на стандардне инхалационе алергене. Кожни тестови изведени су коришћењем комерцијалног пакета аероалергена, који је обухватао гриње (*Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*), полене [бреза, маслина, дивљи пелин (*Artemisia vulgaris*), коприва (*Parietaria*), боквица (*Plantago*), амброзија (*Ambrosia elatior*)], длаку мачке, пса и коња, плесни (*Alternaria*, *Cladosporium*), произвођач (Soluprick, ALK-Abelló A/S, Hørsholm, Denmark). Укључили смо негативне (0,9% натријум-хлорид) и позитивне (хистамин-дихидрохлорид) контроле за све тестове. Тест је сматран позитивним ако је пречник избочине на кожи био у пречнику већи од 3 mm у поређењу са контролом.

Узети су у обзир подаци из анамнезе, претходни симптоми алергијског ринитиса, резултати кожних проба преосетљивости на инхалационе алергене, као и серолошког теста из узорака крви на укупни серумски IgE. Одређивање укупног серумског IgE је уведено као додатни критеријум за потврђивање атопијског статуса испитаника, с обзиром да су се код пацијената са носном полипозом симптоми хроничног риносинуситиса „преклапали“ са симптомима алергијског ринитиса.

За мерење концентрације IgE у серуму на ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) читачу (Spectra III, Austria), користили смо комерцијални хумани ELISA комплет (Elitech Diagnostics, Salon-de-Provence, France). Пацијенти са укупним нивоом IgE у серуму вишим од 100 IU/ml су сматрани атопичним.

3.4 Клиничка процена тежине симптома, локалног налаза и степена проширености болести

3.4.1 Процена тежине симптома

Сваки испитаник је понаособ процењивао тежину својих симптома удружених са носном полипозом (група пацијената са алергијском и неалергијском формом болести), односно са деформацијом носног септума (контролна група).

Узето је у обзир 5 симптома:

- назална опструкција,
- ринореја,
- хипосмија,
- кијање
- свраб у носу.

Испитаници су попуњавали упитник који је састављен на основу претходне студије чије су резултате објавили Цикопулос и сарадници (Tsicopoulos et al.) (88).

Класификација симптома у упитнику извршена је на следећи начин:

- 0 за одсуство симптома,
- 1 за лакше симптоме,
- 2 за средње тешке симптоме
- 3 за тешке симптоме.

Максимални носни симптом скор је био 15 (90).

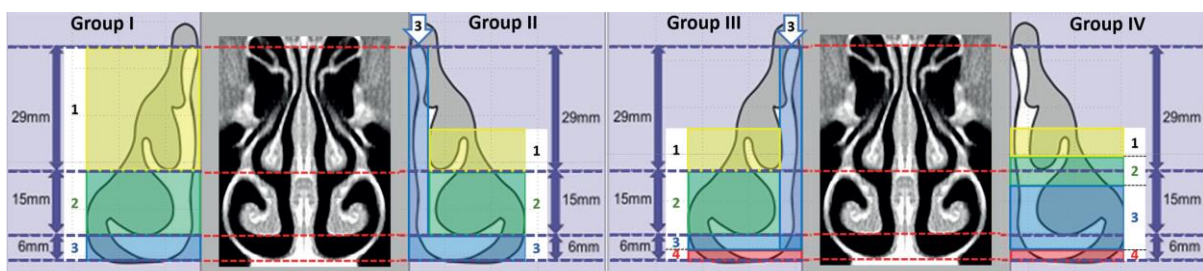
3.4.2 Процена локалног налаза (Ендоскопски скор)

Ендоскопски преглед носа је био рађен у седећем положају пацијената са носном полипозом, уз употребу ригидног ендоскопа 0° и 30° (Storz, Tuttlingen, Germany). Деконгестивне капи и анестетици нису били коришћени због могућег утицаја на величину носних полипа. Ендоскопски налаз је био класификован методом по Малму и сарадницима (Malm et al.) (89), односно Лилдхолду и сарадницима (Lildholdt et al) (90).

Величина носних полипа је класификована у односу на анатомске детаље у носној шупљини на четири степена (Слика 7):

- нулти степен (без полипа),
- 1. степен (мали полипи који не допиру до горње ивице доње носне шкољке),
- 2. степен (полипи средње величине који допиру до растојања између горње и доње ивице доње носне шкољке),
- 3. степен (велики полипи који допиру испод доње ивице доње носне шкољке)

Максимални ендоскопски скор, посматран обострано је износио 6 (90,91).



Слика 7: Диспаратети међу системима оцењивања назалних полипа. Група И је нелинеаран, једнодимензионални систем оцењивања од 0 до 3. Група ИИ је нелинеарна, дводимензионални, систем оцењивања од 0 до 3. Група ИИИ је нелинеаран, дводимензионални систем оцењивања од 0 до 4. Група ИВ је нелинеарна, једнодимензионална,

Систем оцењивања од 0 до 4. Свака оцена је означена бојом (оцена 1, жута; оцена 2, зелена; оцена 3, плава; оцена 4, црвена).

Преузето из (96).

3.4.3 Процена степена проширености болести на снимцима компјутеризоване

3.4.3.1 Томографије параназалних синуса (Lund- Mackey)

Систем бодовања степена проширености носне полипозе на снимцима компјутеризоване томографије параназалних синуса је вршен методом коју су установили Ланд и Мекеј (Lund and Mackay) (87). Сваком од параназалних синуса (максиларни, фронтални, сфеноидни, предњих етмоидалних ћелија и задњих етмоидалних ћелија) се додељује нумеричка оцена на основу степена замућености тј. опсега проширљности полипа у самим синусима. (Табела 2):

Табела 2: Систем бодовања степена проширености носне полипозе

0	Без абнормалности
1	Делимично замућење
2	Комплетно замућење

Структура позната као остиомеатални комплекс у анатомском смислу обухвата инфундибулум, етмидалну булу и околне етмоидалне ћелије, полумесечасте отвор виличног синуса и природно ушће виличног синуса (Слика 8). Ове структуре имају кључну улогу у мукоцилијарном транспорту и евакуацији секрета из виличних синуса.



Слика 8: КТ снимак параназалних шупљина. Стрелицом је означено подручје остеомеаталног комплекса.

(фотографија из личне архиве)

С обзиром на чињеницу да је ову градацију тешко применити на остиомеатални комплекс, стање овог комплекса се једноставно оцењује са (Табела 3):

Табела 3: Систем бодовања захваћености остиомеаталног комплекса

0	Није опструисан
2	Опструисан

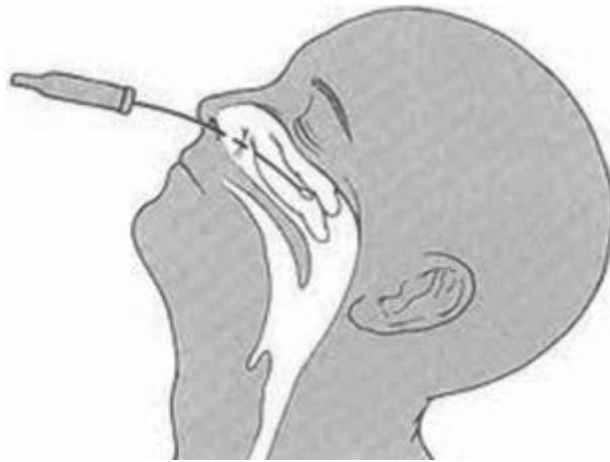
Тако је могућ укупан скор од 0 до 24, а свака страна се може разматрати засебно (0 до 12) (87,94).

3.5 Узорковање носног секрета

Узорци носног секрета узимани су из носних шупљина свих 90 испитаника, односно из носних шупљина 60 пацијената са носном полипозом и 30 испитаника без запаљенских промена у носној шупљини (контролна група). За узорковање носног секрета смо користили апсорпциону технику (Слика 9), уз употребу штапића са ватом на врху, при чему је део обложен ватом био дужине 10 милиметара, а пречника 4

милиметра (произвођач: Институт за вирусологију, вакцине и серуме, „Торлак“, Београд, Србија). Техника се заснивала на претходним сазнањима да састав носног секрета веома верно одсликава стање запаљења у носној слузници, као и непредовање болести параназалних синуса. Сваком од испитаника је део штапића обложен ватом био постављен у средњи носни ходник и ту остављен током 5 минута, колико је потребно да се комадић вате у потпуности натопи носним секретом (97,98).

Након тога се део штапића са ватом одломи и сваки од њих се урони у Епендорф (Eppendorf) епрувету, запремине 2 mL, која садржи 1 mL медијума за пренос (transfer medium).



Слика 9: Апсорпциона техника узорковања носног секрета

Прузето из (94).

Медијум за трансфер се састојао од фосфатно пуферисаног раствора натријум-хлорида (0,9% физиолошки раствор), коме су у циљу превенције инфекције органских материја у узорцима носног секрета додата два антибиотика и један антимицотик (гентамицин 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, пеницилин G 340 IU/mL, фунгизон 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Сваки део штапића са ватом је стајао у медијуму за трансфер током 30 минута, колико је било потребно за дифундовање састојака носног секрета. Материјал је чуван на температури од 4°C највише 2 h пре обраде. Након тога су делови штапића са ватом уклањани из Епендорф епрувете, а узорци су центрифуговани на 1000 g током 10 минута да би се одвојиле ћелијске компоненте од супернатанта. Ћелијске компоненте су се таложиле на дну епрувете, а супернатант је остајао изнад као бистра, серозна течност, која се чувала на температури од -70°C, не дуже од два месеца, до детекције медијатора. Концентрације медијатора инфламације су мерене у сваком од узорака применом ELISA технике, а уз употребу комерцијалних хуманих ELISA китова (за HSP70 хумани кит произвођача MyBioSource, Inc., San Diego, CA, USA; за CC16, Elabscience Biotechnology, Ltd., Houston, TX, USA; за ECP, Aviscera Bioscience, Inc., Santa Clara, CA,

USA; за триптазу, Abbexa Ltd., Cambridge, UK; за супстанцу P, RayBiotech, Norcross, GA, USA.). Концентрације медијатора запаљења су биле изражене у пикограмима/милилитру (pg/ml). Осетљивост детекције, распони детекције и коефицијенти варијације за биохемијске параметре приказани су у Табели 4.

Табела 4. Сензитивност детекције медијатора, распони детекције медијатора и коефицијенти варијације

Медијатор	Осетљивост детекције (pg/mL)	Распон детекције (pg/mL)	Коефицијент варијације (%)
HSP 70	10	125-4000	<15%
CC16	37,5	62,5-4000	<10%
ЕСР	50	156-10000	4-6%
Триптаза	3,1	7,8-500	<10%
Супстанца P	100	100-1000000	<10%

3.6 Снага студије и величина узорка

Испитаници су разврстани у 3 групе у зависности од клиничког статуса. Снага студије је морала да буде минимално 80% (0,8) а вероватноћа грешке првог типа ($\alpha = 0.05$) је требала да износи 0,05. На основу података из доступне литературе (46), могао се очекивати вишеструко већи ниво HSP70 код болесника са носном полипозом у односу на испитанике из контролне групе. Такође, на основу података из исте студије (46), могло се претпоставити да ће и вредности стандардних девијација бити релативно високе. Стога је за прорачун величине групе одабрана умерена јачина ефекта (effect size) од 0,34. Уз статистичку значајности између испитиваних група на нивоу од $p < 0,05$, уз снагу студије од 80%, неопходно је приближно 90 болесника (око 30 у свакој групи). Прорачун је извршен тестом анализе варијансе (ANOVA, fixed effects, omnibus, one-way) а уз помоћ комерцијалног доступног програма G Power 3.1.

3.7 Статистичка анализа

Статистичка анализа подразумевала је примену дескриптивних и инференцијалних статистичких метода и тестова. Тестирање нормалности распореда извршено је применом Шапиро-Вилк (Shapiro-Wilk) и Колмогоров-Смирнов (Kolmogorov-Smirnov) тестовима. За процену значајности разлике у вредностима клиничких скорова и параметара инфламације између група испитаника коришћен је Крускал-Валис (Kruskal-Wallis) H тест. „Post hoc“ тестирање извршено је применом Ман-Витни (Mann-Whitney) U теста. Испитивање статистичке повезаности (корелација) између испитиваних параметара извршено је помоћу Спирмановог (Spearman) коефицијента корелације, где је вредност коефицијента испод 0,3 сматрана слабом повезаношћу, од 0,3 до 0,7 умереном, а преко 0,7 јаком повезаношћу. Резултати су приказани као апсолутни бројеви и медијана са 25 и 75 перцентилима. Статистички значајном разликом сматрана је p вредност мања од 0,05.

4 Резултати

У студију било укључено је 90 испитаника. Експериментална група испитаника састојала се од 60 (66,7%) пацијената код којих је постављена дијагноза носне полипозе и који су били предвиђени за ендоскопско хируршко лечење ове болести, док је контролна група укључивала 30 (33,3%) испитаника са клинички здравом носном слузницом, код којих је урађена операција исправљања деформације носне преграде (септопластика). У групи пацијената са дијагнозом носне полипозе, 29 (32,2%) пацијената имало је алергијски тип болести, док је 31 пацијент (34,4%) имао неалергијску форму назалне полипозе. На овај начин формиране су три групе испитаника у постојећој студији: контролна група (С), група пацијената са алергијском формом назалне полипозе (eng. Aero-allergen-sensitized Form of Nasal Polyposis or Allergic Form of Nasal Polyposis, ANP) и група пацијената са неалергијском формом назалне полипозе (eng. Non-aero-allergen-sensitized Form of Nasal Polyposis or Non-allergic Form of Nasal Polyposis, NANP).

4.1 Демографске карактеристике испитаника

Поређењем демографских података, нису уочене статистички значајне разлике у броју испитаника, односу броја мушких и женских испитаника, као и старости испитаника по групама (Табела 5).

Табела 5. Демографске карактеристике испитаника

Параметри	Контролна група	NANP	ANP
Испитаници	30	31	29
Мушкарци/жене	16/15	18/13	14/15
Просечна старост	43,25 (27,00-62,00)	46,15 (28,00-63,00)	44,20 (25,00-61,00)

4.2 Резултати алерголошких тестирања

Резултати алерголошких тестирања су приказани у Табели 6.

Табела 6. Резултати алерголошких тестирања на инхалационе алергене

Параметри	Контролна група	NANP	ANP
Позитивни подаци о алергијама из историја болести	0,00	0,00	29
Позитивне кожне пробе са инхалационим алергенима	0,00	0,00	29 (100%) <i>D. farinae</i> : 23 (79,3%) <i>Plantago</i> : 22 (75,8%) <i>Ambrosia elatior</i> : 21 (72,4%) <i>D. pteronyssinus</i> : 20 (68,9%) <i>Parietaria</i> : 18 (62,0%)
Укупни серумски IgE (IU/mL)	32,44 (25,80-43,85)	68,30 (51,45-78,35)	138,35 (126,75-162,60)

У погледу резултата кожних проба преосетљивости на инхалационе алергене у групи алергичних пацијената са носном полипозом ANP, 79,3% пацијената је било сензибилисано на *Dermatophagoides farinae*, 75,8% сензибилисано на боквицу (*Plantago*), 72,4% на амброзију (*Ambrosia elatior*), 68,9% на *Dermatophagoides pteronyssinus*, а 62,0% на коприву (*Parietaria*). Концентрације укупног серумског IgE је била виша у групи ANP у односу на групу NANP испитаника ($p = 0,002$), као и у групама ANP и NANP у односу на контролну групу ($p < 0,001$; $p = 0,005$, према редоследу).

4.3 Клиничке карактеристике испитаника

Клиничке карактеристике испитаника су приказане у Табели 7.

Табела 7. **Клиничке карактеристике испитаника:** за процену статистичке значајности је коришћен Крускал-Валис тест

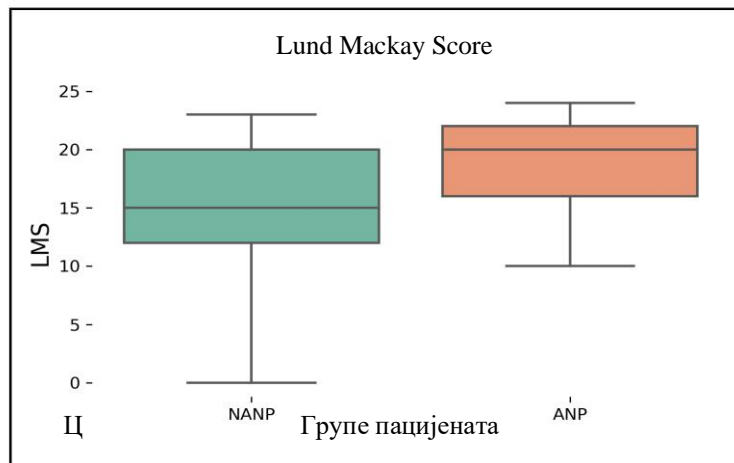
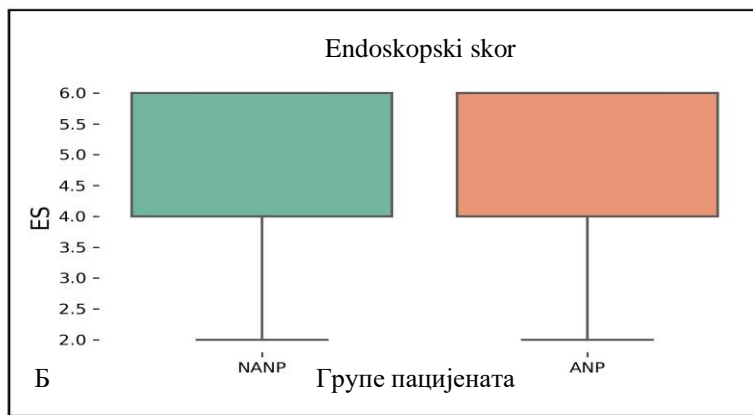
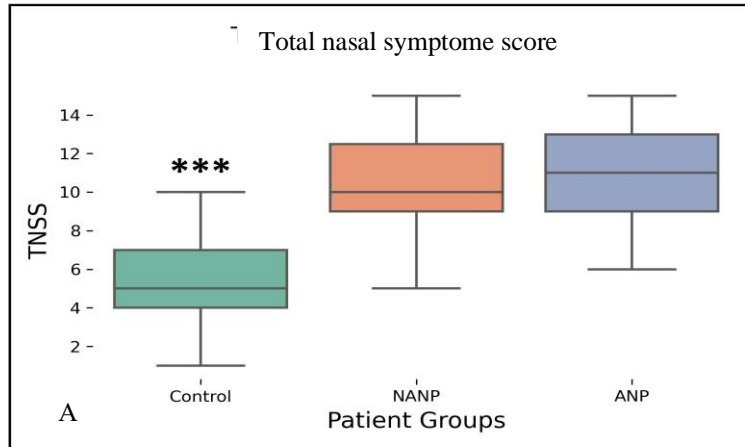
Параметри	Контролна група	NANP	ANP
Носни симптом скор	5,00 (4,00-7,00)	10,00 (9,00-13,00) ^a	11,00 (9,00-13,00) ^a
Ендоскопски скор	0,00	5,00 (4,00-6,00)	6,00 (4,00-6,00)
Lund-Маскау скор	0,00	15,00 (12,00-21,00)	20,00 (15,00-22,00)

Скраћенице: NANP, non-allergic nasal polyposis; ANP, allergic nasal polyposis

Статистичка значајност:

а – разлика у односу на контролну групу испитаника, $p < 0,001$

Поређење клиничких параметара, као што су укупни носни симптом скор (eng. Total Nasal Symptom Score, TNSS), величина носних полипа на основу ендоскопског налаза (Endoscopic Score, ES) и скор проширености носне полипозе на снимцима компјутеризоване томографије параназалних синуса (Lund-Mackay Score, LMS), показало је постојање значајне статистичке разлике само за TNSS. Статистички значајна разлика у вредности TNSS показана је између све три групе пацијената ($\chi^2(2) = 46,326, p < 0,001$), са „mean rank“ вредношћу од 19,1 за С, 57,98 за NANP и 59,47 за ANP групе. Post-hoc тестирање показало је постојање статистички значајне разлике између С и NANP групе пацијената ($U = 42,5, p < 0,001$), као и између С и ANP група ($U = 65,5, p < 0,001$) (Графикон 1А). Није показано присуство статистички значајне разлике између NANP и ANP група ($U = 414, p = 0,597$) (Слика 1А). Такође, вредности ES и LMS нису се разликовале између NANP и ANP група ($U = 358,5, p = 0,134$ и $U = 337, p = 0,095$, према редоследу) (Графикон 1Б и 1Ц).



Графикон 1. Поређење вредности различитих клиничких параметара између група испитаника укључених у студију. Разлика у вредности TNSS је испитивана између све три групе пацијената, док су вредности ES и LMS испитиване само код пацијената са дијагнозом назалних полипа. Статистичка разлика показана је само за TNSS, који је статистички био виши код NANP и ANP група у односу на пацијенте из контролне групе.

4.4 Концентрације медијатора запаљења у носном секрету

Концентрације медијатора запаљења у носном секрету су приказане у Табели 8.

Табела 8. **Концентрације медијатора запаљења у узорцима носног секрета:** за процену статистичке значајности је коришћен Крускал-Валис тест

Параметри	Контролна група	NANP	ANP
HSP70 (pg/mL)	204,45(184,53-270,70)	1208,20 (1123,80-1429,20) ^a	1778,50 (1313,80-2301,30) ^{a,б}
CC16 (pg/mL)	899,00(793,30-1223,15)	242,00 (211,60-294,40) ^a	135,30 (119,00-217,43) ^{a,б}
ECP (pg/mL)	223,25 (197,65- 308,77)	1118,80 (901,80-1499,20) ^a	1733,60 (1048,20-2432,55) ^{a,ц}
Триптаза (pg/mL)	30,75 (22,97-77,65)	71,60 (48,80-95,00) ^д	291,60 (224,95-364,00) ^{б,д}
Супстанца Р (pg/mL)	186,88 (146,52-207,69)	777,25(297,30-1171,80) ^a	576,74 (251,85-1135,85) ^a

Скраћенице: NANP, non-allergic nasal polyposis; ANP, allergic nasal polyposis; HSP70, Heat shock protein 70; CC16, Clara cell protein 16; ECP, Eosinophil cationic protein

Статистичка значајност:

а – разлика у односу на контролну групу испитаника, $p < 0,001$

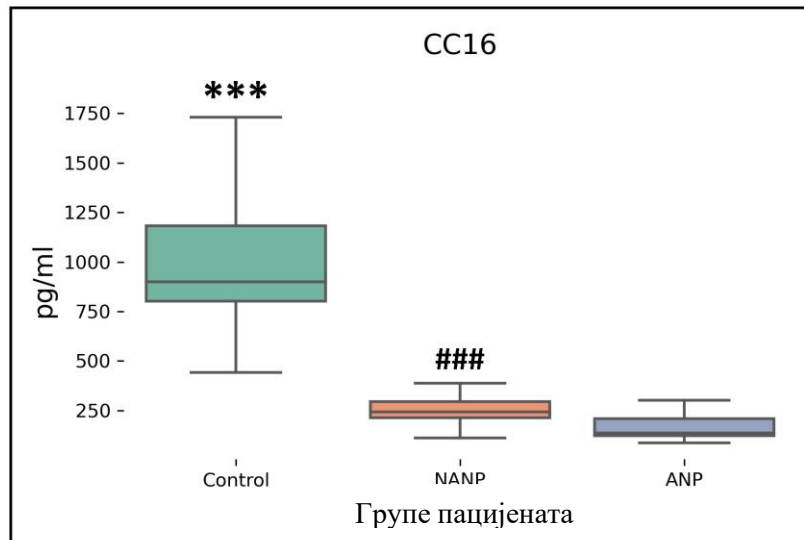
б – разлика између NANP и ANP групе, $p < 0,001$

ц - разлика између NANP и ANP групе, $p < 0,01$

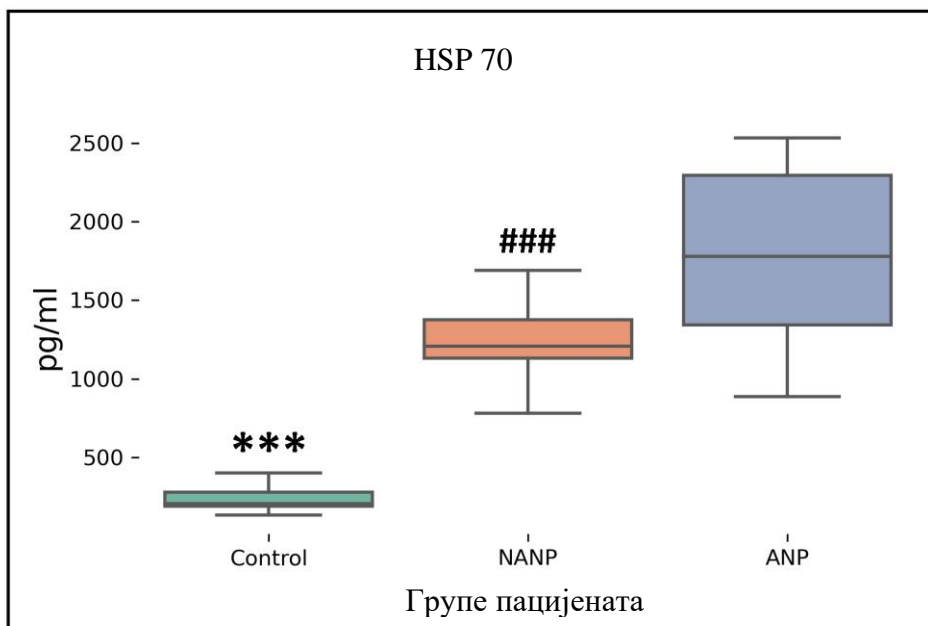
д - разлика у односу на контролну групу испитаника, $p < 0,01$

Све три групе испитаника показале су значајну статистичку разлику у вредности инфламаторних параметара: CC16 ($\chi^2(2) = 66,083$, $p < 0,001$) са „mean rank“ вредношћу од 75,5 за С, 38,97 за NANP и 21,45 за ANP групу (Графикон 2); HSP70 ($\chi^2(2) = 65,332$, $p < 0,001$) са „mean rank“ вредношћу од 15,5 за С, 52,52 за NANP и 69,03 за ANP групу (Графикон 3); ECP ($\chi^2(2) = 59,439$, $p < 0,001$) са „mean rank“ вредношћу од 16,35 за С, 54,05 за NANP и 66,52 за ANP групу (Графикон 4); триптаза ($\chi^2(2) = 51,852$, $p < 0,001$) са „mean rank“ вредношћу од 24,23 за С, 40,82 за NANP и 72,5 за ANP групу (Графикон 5); супстанца Р ($\chi^2(2) = 36,223$, $p < 0,001$) са „mean rank“ вредношћу од 22,27 за С, 59,71 за NANP и 54,34 за ANP групу (Графикон 6). Post-hoc тестирање за сваки од претходних инфламаторних параметара показало је постојање статистички значајне разлике између С и NANP група пацијената (CC16: $U = 0$, $p < 0,001$; HSP70: $U = 0$, $p < 0,001$; ECP: $U = 25,5$, $p < 0,001$; триптаза: $U = 235$, $p < 0,01$; супстанца Р: $U = 89$, $p < 0,01$).

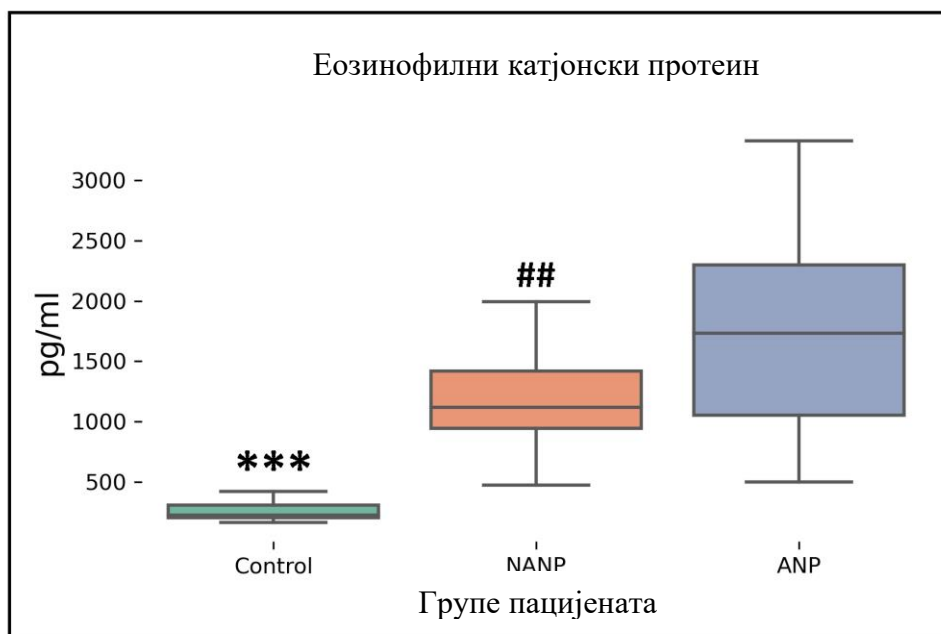
0,001), C i ANP група (CC16: $U = 0$, $p < 0,001$; HSP70: $U = 0$, $p < 0,001$; ECP: $U = 0$, $p < 0,001$; триптаза: $U = 27$, $p < 0,01$; супстанца P: $U = 114$, $p < 0,001$) и између NANP i ANP група за све медијаторе изузев за супстанцу P (CC16: $U = 187$, $p < 0,001$; HSP70: $U = 202$, $p < 0,001$; ECP: $U = 275$, $p < 0,01$; триптаза: $U = 74,5$, $p < 0,001$; Супстанца P: $U = 385$, $p = 0,34$).



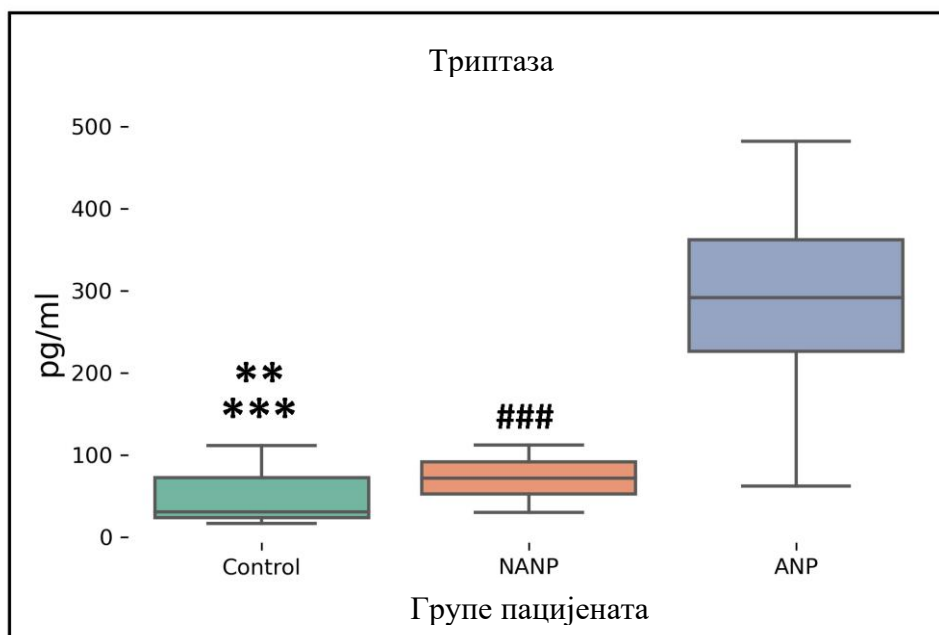
Графикон 2. Концентрација CC16 је била статистички виша у контролној групи пацијената у односу на пацијенте са носном полипозом. Такође, вредност CC16 била је већа код пацијената из NANP групе него код пацијената из ANP групе. Резултати су приказани као медијана са 25. и 75. перцентилот. *** - означава p вредност $< 0,001$ и статистичку разлику између контролне и NANP/ANP групе. ** - означава p вредност $< 0,01$ и статистичку разлику између контролне и NANP/ANP групе. ### - означава p вредност $< 0,001$ и статистичку разлику између NANP и ANP групе. Скраћенице: ANP - Allergic form of nasal polyposis; NANP - Non-allergic form of nasal polyposis.



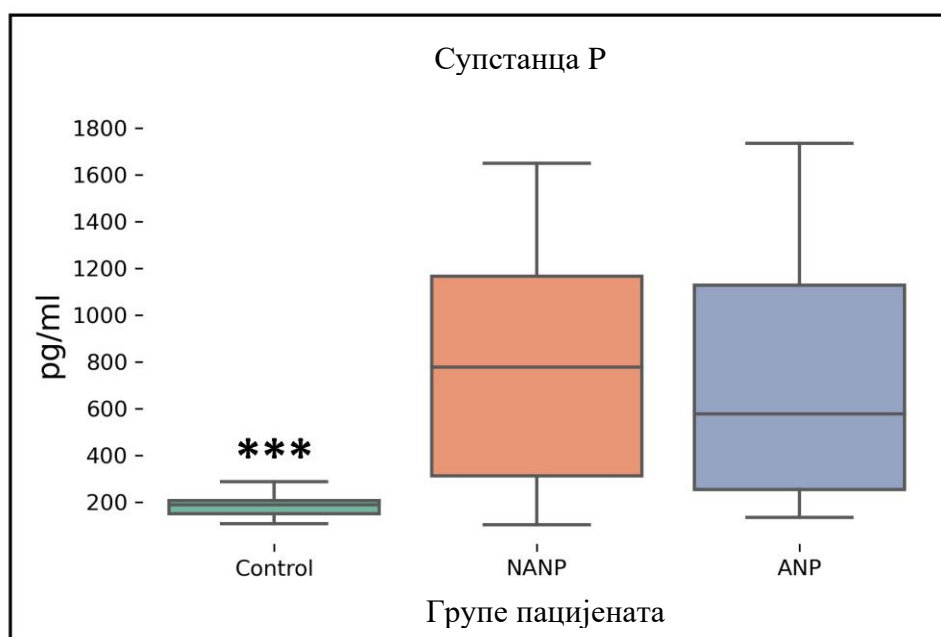
Графикон 3. Концентрације *HSP70* биле су значајно ниже у контролној групи пацијената у односу на пацијенте са носном полипозом, док су пацијенти из групе *NANP* имали ниже вредности него пацијенти из групе *ANP*.



Графикон 4. *ECP* је показао ниже концентрације код пацијената из контролне групе и значајно ниже вредности у *NANP* групи него у *ANP* групи.



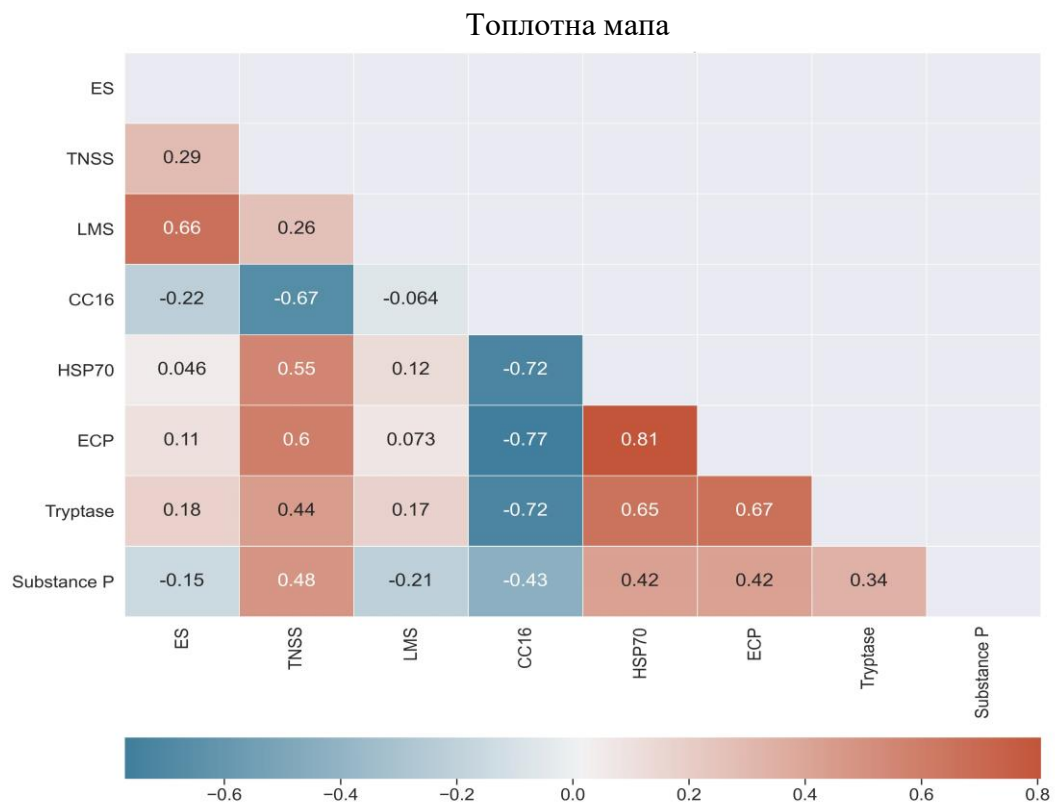
Графикон 5. Нивои триптазе су такође били нижи код пацијената из контролне групе и NANP групе у односу на пацијенте из ANP групе.



Графикон 6. Статистички значајно ниже концентрације супстанце Р измерене су само код пацијената из контролне групе, док значајне разлике између NANP и ANP групе нису биле уочене.

4.5 Статистичка повезаност између клиничких и биохемијских параметара (корелације)

Однос између вредности инфламаторних медијатора и скова клиничких параметара испитаника укључених у студију показује умерено јаку позитивну повезаност између TNSS и HSP70, ECP, триптазе и супстанце P, док је умерено јака негативна корелација показана за TNSS и CC16 ($r_s = -0,67$). Слично, CC16 показао је умерено јаку до јаку негативну корелацију са остала четири инфламаторна медијатора. HSP70, ECP и триптаза показали су различите нивое позитивне корелације између себе, док је HSP70 показао највећу позитивну корелацију са ECP ($r_s = 0,81$) (Графикон 7).



Графикон 7. Топлотна мапа (heatmap) колерације између различитих инфламаторних медијатора и клиничких параметара. Боје у топлотној мапи одговарају јачини и смеру повезаности, где црвена боја одговара позитивној корелацији, плава боја означава негативну повезаност, док бела боја означава коефицијент корелације који је једнак 0. Вредност у квадрантима топлотне мапе одговарају Spearmanовом коефицијенту корелације. Скраћенице: TNSS - Total Nasal Symptom Score; ES - endoscopic score; LMS - Lund-Mackay score; ANP - Allergic form of nasal polyposis; NANP - Non-allergic form of nasal polyposis; ECP – Eosinophil cationic protein.

5 Дискусија

Хронични риносинуситис (chronic rhinosinusitis - CRS) је хронично запаљење носно-синусне слузнице које се, у зависности од присуства или одсуства носних полипа и доминантног типа имунског одговора дели на хронични риносинуситис са носним полипима (chronic rhinosinusitis with nasal polyps - CRSwNP), код кога доминира Т2 имунски одговор и хронични риносинуситис без носних полипа (chronic rhinosinusitis without nasal polyps - CRSsNP), код кога доминира Т1 имунски одговор (12). Референца!

Полипи носа и параназалних шупљина се дефинишу као инфламаторне израстине хипертрофичне респираторне слузнице носно-синусне регије (91).

Дијагноза запаљења горњих респираторних путева базира се на анамнестичким подацима, клиничком прегледу (предњој и задњој риноскопији и ендоскопији носне шупљине), тестирању на алергије, радиолошким налазима (компјутеризована томографија носне шупљине и параназалних синуса), функционалним тестовима, као и на цитолошком налазу (94,97).

Носни секрет са свим својим карактеристикама, гел и сол фазом, као и разликама у концентрацији мукополисахарида који су углавном присутни у гел фази, представља прву линију одбране слузнице носа и параназалних шупљина. Управо та разлика у концентрацији мукополисахарида омогућава покретање циљја респираторног епитела у сол фази и неометани процес мукоцилијарног транспорта – природног чишћења носне слузнице. Продукти леукоцита носне слузнице, заједно са мукоцилијарним транспортом и биохемијском заштитом мукуса, носиоци су заштитне функције (16,94,98–100).

Готово 95% састава носног секрета чини вода. Органске материје (мукополисахариди, протеини и масти) чине око 3%, а електролити преосталих 2%. Најзаступљенији протеини су албумини и имуноглобулини, између 45% и 80%. Албумини воде порекло из трансудата/ексудата крвне плазме, док имуноглобулине производе имунокомпетентне ћелије – плазмоцити (101).

Један део протеина носног секрета чине и тзв. заштитне материје (лизозим, лактоферин, каликреин), као и медијатори имунског одговора и запаљенске реакције – цитокини и хемокини (101,102).

Етиопатогенеза хроничног риносинуситиса је мултифакторијална и недовољно разјашњена. Овоме иде у прилог постојање различитих теорија и ставова које у први план стављају алергије и имунске поремећаје, анатомске карактеристике, конгениталне болести, мукоцилијарне дисфункције, метаболичке поремећаје, бронхијалну астму, интолеранцију на нестероидне анти-инфламаторне лекове, гљивичне инфекције, одонтогене инфекције, а у новије време и утицај биофилма носне слузнице. Управо биофилм може бити извор бактеријских и гљивичних хомолога протеину HSP70, који је идентификован у носној и усној дупљи (103).

У складу са наведеним, може се закључити да је анализа састава носног секрета драгоцен извор информација везаних за етиопатогенезу хроничног риносинуситиса, као и за праћење тока сложених патофизиолошких механизма овог обољења. Ови механизми су у основи различитих запаљенских и других болести горњих дисајних

путева. Алергиски ринитис (AR), неалергиски ринитис са еозинофилним синдромом (NARES), акутни и хронични риносинуситис, као и носна полипоза најчешће су запаљенске болести слузокоже носа и параназалних синуса(101,102,104).

Алергијско тестирање је међу нашим пацијентима идентификовало само пет аероалергена међу пацијентима са носном полипозом (група ANP): две врсте гриња, као перенијални (целогодишњи) алергени, и три врсте полена биљака (боквица, амброзија и коприва). Гриње (*Dermatophagoides farinae* и *Dermatophagoides pteronyssinus*) су перенијални (целогодишњи) алергени затвореног простора. Носна слузница и слузница параназалних синуса је током целе године континуирано изложена дејству ових алергена, тако да хроничне запаљенске промене у носној слузници резултују ремоделовањем и формирањем носних полипа. Далеко су интересантнији резултати везани за сезонске алергене међу пацијентима са носном полипозом. Србија се налази на прелазу медитеранске и средњеевропске климатске зоне, тако да је заступљено свега неколико биљака које цветају током неколико месеци. Цветање боквице траје 8 месеци, од марта до октобра. Коприва цвета 7 месеци, од априла до октобра. Посебно је занимљив детаљ везан за амброзију. Ова биљка има период цветања од јула до октобра, а чак 72,4% пацијената из групе „алергијских“ са носном полипозом, било је сензибилисано на ову врсту полена биљке. Полен ове биљке је један од најјачих алергена у Србији, довољно јак да изазове запаљење слузнице носне шупљине и параназалних синуса, које може довести до њиховог ремоделовања, које резултује формирањем носних полипа, упркос излагању не дужем од 4 месеца током године.

Поред заштитних улога HSP70 унутар ћелије, он може бити и ванћелијски, лоциран у ванћелијском простору или на ћелијској мембрани, где игра улогу у стимулацији имуног одговора. Концентрација HSP70 у серуму је повећана у стаљима стреса, као и у малигним болестима, чије су ћелије један од главних извора овог медијатора. Претходне студије су идентификовале повећано присуство HSP70 на површини ћелије рака током раста тумора и метастаза (105).

Присуство HSP у ванћелијском простору се објашњава на два начина:

(1) Механизам пасивног ослобађања који укључује некрозу и апоптозу ћелија, тешку тупу трауму, хируршке интервенције са одстрањењем дела ткива, као и стање током и након инфекција литичким вирусима;

(2) Механизам активног ослобађања који укључује неklasичан пут ослобађања протеина у коме су HSP ослобођен из високо имуногених егзозома (106,107).

Екстрацелуларне мембране које садрже HSP70 снажно активирају макрофаге, индукујући производњу проинфламаторног цитокина фактор некрозе тумора-алфа (TNF- α) (72).

Интрацелуларни HSP70 је цитопротективни протеин, који када доспе у екстрацелуларни простор, поседују проинфламаторна својства(107).

Резултати нашег истраживања указују на повећану концентрацију у носном секрету екстрацелуларног HSP70, ECP, триптазе и супстанце P код пацијената са носном полипозом у односу на испитаника без инфламације носне слузнице. Поред тога, HSP70, ECP и триптаза су измерени у значајно вишим концентрацијама у групи алергичних пацијената са носном полипозом (група ANP) у односу на неалергичне пацијенте са носном полипозом (група NANP), што указује на присуство повећаног

нивоа хроничне инфламације и активност еозинофила/мастоцита у алергијском облику назалне полипозе.

Такође, резултати су показали постојање позитивне корелације између тежине носних симптома и концентрације ових инфламаторних медијатора у носном секрету.

Резултати до којих смо дошли, показују да је укупни скор носних симптома статистички био виши код пацијената са носном полипозом из неалергијске и алергијске групе у односу на испитанике из контролне групе са здравом носном слузницом. Ови резултати су у складу са резултатима студије коју су реализовали Тамасаускиене (Tamasauskiene) и сар. (108), а који указују на значајну статистичку разлику у укупном скору симптома код пацијената са алергијским и неалергијским ринитисом у односу на контролну групу.

Студија коју су реализовали Бадорек (Badorrek) и сарадници (109) такође је дошла до резултата о статистички значајно вишим скором носних симптома код пацијената са алергијским ринитисом у односу на контролну групу.

Студија Јохансона (Johansson L) и сарадника (110) показала је да је симптом назалне опструкције (један од параметара укупног носног скорa симптома) не колерира са степеном проширености носне полипозе. У истој студији корелација између назалне опструкције и Lund-Маскау скорa је била већа код пацијената са израженијом носном полипозом.

У студији Фенга (Feng) и сарадника (111) праћен је укупни скор носних симптома пацијената оболелих од астме са алергијским ринитисом, неалергијским ринитисом, носном полипозом и хроничним риносинуситисом без носних полипа у односу на пацијенте са овим облицима запаљења без астме. Све четири астматичне групе пацијената су имале значајно повећане вредности овог скорa у односу на пацијенте без астме.

Објективни параметри праћења хроничног риносинуситиса, Lund-Маскау скор и ендоскопски скор, показују различите резултате.

Подаци које је објавио „Northwestern Sinus and Allergy center“ откривају да је скор промена на снимцима компјутеризоване томографије параназалних синуса, тзв. Лунд-Мекеј (Lund-Маскау) скор, виши код пацијената са носном полипозом у односу на пацијенте са другим формама хроничног риносинуситиса. Пацијенти са астмом су у већем проценту имали носне полипе, у поређењу са пацијентима без астме (57,6% на према 25%). Ипак, не треба схватити да је системска, IgE посредована болест једини патофизиолошки механизам у настанку носне полипозе (112).

Сафави (Safavi) и сарадници, објавили су студију о дијагностичкој вредности клиничких знакова и симптома у дијагнози синуситиса. Ова студија је показала да је Lund-Маскау скор значајно више и у позитивној корелацији са носном опструкцијом и кашљем. Оваква корелација сугерише да се Lund-Маскау скор може користити у процени тежине болести код пацијената са хроничним риносинуситисом.

(Safavi Naeni A, Zangi M, Safavi NP, Haj Fathali. evaluating diagnostic value of clinical symptoms and signs for sinusitis by ct scan at milad hospital. annals of military and health sciences research. 2007) У обој референци недостају подаци о броју, броју свеске и страницама!

Хопкинс и сарадници, су урадили процену Lund-Маскау скорa код пацијената са хроничним риносинуситисом. У овој студији пацијенти су подељени су у две групе на основу присуства/одсуства назалних полипа. Код пацијената са синуситисом без полипа, резултат Lund-Маскау скорa је био значајно нижи. Према овој студији Lund-Маскау скор може бити добар предиктор тежине клиничких симптома и квалитета живота пацијената са хроничним риносинуситисом. Такође, пацијенти са вишим вредностима Lund-Маскау скорa су чешће били кандидати за операцију, а што је скор имао веће вредности, то је оперативни захват био сложенији (112).

(Brooks SG, Trope M, Blasetti M, Doghramji L, Parasher A, Glicksman JT, et al. Preoperative Lund-Mackay computed tomography score is associated with preoperative symptom severity and predicts quality-of-life outcome trajectories after sinus surgery. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2018;8(6):668-75.). Где убацити ову референцу?

Студија Голама (Gholam) и сарадника (113), показала је да постоји значајан однос између резултата Lund-Маскау скорa и клиничког статуса. Стога се овај систем евалуације може користити као ефикасан начин предвиђања прогнозе пацијената са хроничним риносинуситисом.

Међутим, прегледом литературе наилазимо и на студије које иду у прилог слабости критеријума Lund-Маскау скорa у предвиђању клиничког статуса пацијената са хроничним риносинуситисом. На пример, студија Хуанга (Hwang) и сарадника (114) о повезаности између симптоми хроничног риносинуситиса и резултата Lund-Маскау скорa, уакзују на негативну корелацију. Ова студија је обухватила 125 пацијената. Од тог броја је 115 пацијената имало критеријуме симптома за хронични риносинуситис, од којих је 40 пацијената имало нулту вредност Lund-Маскау скорa, упркос дијагностичким критеријумима за риносинуситис, када се симптоми болести узму у обзир.

Студији Кохена-Керема (Cohen-Kerem) и сарадника (115), показује да назална ендоскопија код пацијената са носном полипозом добро корелира са субјективном проценом тежине симптома од стране пацијената, док је Lund-Маскау скор био помоћна процедура, посебно у случајевима кад су присутни симптоми хроничног риносинуситис (налаз носне слузнице и присуство гноја). У студији на 125 пацијената са CR, ендоскопија је могла да потврди али не и да искључи дијагнозу.

Студија Фреитаса (Freitas MR) и сарадника (116) у којој је било укључено 20 пацијената са цистичном фиброзом и симптомима хроничног синуситиса, показала је позитивну корелацију између колонизације носне слузнице и ендоскопског налаза, што није био и случај са компјутерском томографијом.

Према нашим резултата, корелације су биле много слабије између објективних параметара проширености болести синуса (ендоскопски скор, Lund-Маскау скор) и концентрације медијатора инфламације у узорцима носног секрета. У претходним истраживањима Цибикова и сарадника (Tsybikov et al.) (103) и Мина и сарадника (Min et al.) (117), аутори су изнели значајну статистичку повезаност између концентрација HSP70 у назалном секрету и Lund - Маскау скорa, што сугерише да се HSP70 може користити као биомаркер који указује на степен проширености болести код пацијената са носном полипозом.

Ове разлике у резултатима наших и претходних студија могу се објаснити мањим бројем испитаника у нашој студији, али и чињеницом да објективни параметри (ендоскопски скор, Lund - Маскау скор) представљају тренутно (затечено) стање у носно-синусном подручју које може бити релативно брзо подложно променама.

Са друге стране, дуготрајно напредовање запаљења назалне и синусне слузнице тече паралелно са продукцијом инфламаторних медијатора, што може бити у складу са постепеним напредовањем назалних симптома као субјективних показатеља.

Ким и сарадници (Kim et al.) (118) су, анализирајући везу између еозинофилне активности и концентрације ЕСР у серуму (заступљеност еозинофила у назалном секрету, ниво серумског ЕСР, скор симптома, скор налаза на снимцима компјутеризоване томографије параназалних синуса, величина назалних полипа, као и учесталост рецидива носне полипозе) закључили да би концентрација ЕСР у серуму могла да послужи као маркер локалне и системске еозинофилне инфламације. Донг-ил Сун и сарадници (Dong-II Sun et al.) (119) су, анализирајући концентрацију ЕСР у носном секрету и серуму, као и IL-5 у носном секрету, закључили да је ниво ЕСР у носном секрету у корелацији са концентрацијом IL-5, степеном ткивне еозинофилије, као и чешћим рецидивима болести. Перић и сарадници (120) су поредили концентрацију ЕСР и IL-5 у носном секрету код три групе пацијената: са алергијским ринитисом, са носном полипозом без атопије и код атопичара са носном полипозом. Резултати су показали значајно повишене вредности ЕСР и IL-5 у носном секрету пацијената са назалном полипозом и атопијом у односу на групу пацијента са алергијским ринитисом и групу пацијената са полипозом, без придружене атопије. У истом истраживању је тежина еозинофилне инфламације показана степеном корелације између концентрације ЕСР у носном секрету густине еозинофилне инфилтрације ткива носне слузнице/ткива носних полипа у све три групе пацијената (120).

Егзогено присуство супстанце Р у носу, због изазваног отока носне слузнице доводи до повећања отпора при протоку ваздуха кроз носне шупљине. Тај повећани отпор је управо присутан код пацијената са алергијским ринитисом (54). Лонерган и сарадници (Lonerган et al.) (121) су верификовали повишену концентрацију супстанце Р у узорцима носног секрета пацијената са носном полипозом у односу на здраве испитанике, те на тај начин показали да ткиво носних полипа, осим других медијатора инфламације, може да секретује и значајне количине супстанце Р. Са друге стране, Беатрис и сарадници (Beatrice et al.) (122), као и Дрејк-Ли и сарадници (Drake-Lee et al.) (123) су резултатима својих студија потврдили повишену експресију супстанце Р у ткиву носних полипа.

Улога триптазе и активације PAR - 2 у посредовању ослобађања неуропептида из сензорних неурона је такође истражена. Пронађено је да се на 63% сензорних неурона испољавају PAR-2 рецептори и да 40% њих испољава рецепторе за супстанцу Р и CGRP. Триптаза узрокује ексцитацију сензорних неурона, а на то указује пораст интраћелијског калцијума. Ексцитација сензорних неурона стимулише ослобађање супстанце Р и CGRP. Ово указује да су PAR - 2 рецептори на сензорним неуронима кључни за запаљенски процес и да би антагонисти истих могли да имају улогу антиинфламаторних агенаса током терапије запаљења носне слузнице. Концентрација триптазе у биолошким течностима (крв, серум, плазма) се користи као индикатор броја мастоцита и њихове активности (82).

CC16 је секреторни протеин Клара ћелија. Први пут је детектован у епителијалним ћелијама трахеобронхијалног стабла. Овај протеин је биомаркер од великог значаја за инфламаторне болести респираторног тракта (124).

Антиинфламаторни ефекат CC16 се остварује инхибицијом ензима фосфолипазе А2 (PLA2) и трансглутаминазе, који играју кључну улогу у метаболизму арахидонске киселине током алергијског запаљења (125).

Студија Лиу (Liu) и сарадника (126) је показала да експресија CC16 има позитивну корелацију са степеном запаљења а негативну корелацију са резултатима хирушког лечења.

Улога HSP70 у носној полипозии је први пут испитана у раду Цибикова и сарадника (Tsybikov et al.) (103), мерењем нивоа HSP70 и секреторних IgA (anti-HSP антитела) у носном секрету. Закључено је да су концентрације HSP70 и IgA anti-HSP антитела значајно повишене код пацијената са носном полипозом у поређењу са здравим испитаницима, као и да постоји позитивна корелација између концентрације HSP70 у носном секрету и Lund-Маскау скорa промена на снимцима компјутеризоване томографије параназалних синуса, као и концентрацијама T2 цитокина IL- 4 и IL- 5 у носном секрету (72,103). Иако није детаљно истражено, највероватније да је HSP70 у носном секрету мешавина стресом индуковане и конститутивно присутне форме HSP70.

Поред епителних ћелија у слузници носа, постоје и други извори HSP70 у синоназалним ткивима. Поред тога, многи бактеријски и гљивични хомологи HSP70 протеинима су идентификовани у носној и усној дупљи (46).

Према нашим резултатима, HSP70, ECP, триптаза и супстанца Р показују међусобно различите нивое позитивних корелација, при чему HSP70 показује највећу позитивну корелацију са ECP. Иако тачна улога екстрацелуларног HSP70 у патогенези назалне полипозии још увек није добро испитана, овај медијатор би могао да има широк спектар имунолошких ефеката. Главни извори HSP70 код полипозии носа су епителне ћелије носне слузнице, али, током хроничног запаљења, многе друге активирание ћелије имунског система, као и некротичне ћелије, укључујући мастоците и еозинофиле, постају извори овог молекула (93,103). Поред тога, многи бактеријски и гљивични хомологи протеину HSP70 су идентификовани у носној шупљини (103).

Након контакта са HSP70, тзв. антиген-презентујуће ћелије ослобађају неколико проинфламаторних цитокина, укључујући IL-1 β , IL-6, IL-12 и TNF- α (103). Лин и сарадници (Lin et al.) (127) су као резултат једне имунохистохемијске студије уочили већу експресију HSP70 у еозинофилној форми носне полипозии него у неоеозинофилној форми болести. Активацијом имунског пута нуклеарног фактора капа Б (NF- κ B), HSP70 стимулише производњу неколико цитокина и хемокина, посебно еотаксине, који специфично привлаче еозинофиле на место запаљења. Штавише, NF- κ B има улогу анти-апоптотичког молекула у еозинофилима и може бити одговоран за регрутовање и побољшање преживљавања ових ћелија у носној полипозии (128). Ово би могло бити кључно за објашњење високе позитивне корелација између концентрација HSP 70 и ECP у назалном секрету пацијената са носном полипозом. Еозинофиле имају кључну улогу у хроничним запаљењима слузнице носне шупљине, као и у оштећењу епитела носне слузнице, као и ламине проприје (субепитела) код свих проучаваних облика хроничних инфламаторних обољења горњих дисајних путева.

Хронични риносинуситис без носних полипа (CRSSNP) карактерише претежно неутрофилно запаљење са доминацијом Т1 имунског одговора и повећаним нивоом Т1 цитокина (TNF- α , TNF- β , IL-1 β , IL-2, IL-12, IFN- γ и друге) у ткиву носне слузнице и параназалних синуса. Са друге стране, хронични риносинуситис са носним полипима (CRSwNP) углавном карактерише еозинофилно запаљење са доминацијом Т2 имунског одговора и повишеним нивоом Т2 цитокина (најважнији IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13) (101,129).

Кључни цитокини у овом типу имунског одговора по истраживању Асири-а и Ли-а су интерлеукин 4 (IL-4), IL-5 и IL-13, а студије са реверзном транскриптазом PCR (RT-PCR) показују повећане вредности mRNA за сваки од ових медијатора у ткиву назалних полипа. (130,131)

Присуство еозинофила у ткиву полипа код CRSwNP често је повезано са опсежном болешћу синуса, вишим оценама постоперативних симптома, мањим побољшањем специфичног и општег квалитета живота и већом стопом рецидива полипа (132).

Ензими као индикатори функције гранулоцитних ћелија, обухватају еозинофилни катјонски протеин (ECP), као главни индикатор функције еозинофила и триптазу, као главни индикатор функције мастоцита (102).

Након што настану у коштаном сржи, еозинофили током свог животног циклуса пролазе кроз четири фазе. Прва фаза у њиховом животном циклусу је фаза привлачења еозинофила (фаза хемотаксе). Т лимфоцити продукују IL-3, IL-5, IL-6 и GM-CSF (енгл. Granulocyte macrophage colony stimulating factor), који играју значајну улогу у овој фази. Треба напоменути да неколико чланова такозване CC подфамилије хемокина имају много већу улогу у хемотакси еозинофила: CCL3 (енгл. Macrophage inflammatory protein- 1 alpha – MIP-1 α), CCL5 (RANTES), CCL7 (енгл. Monocyte chemoattractant protein- 3 – MCP-3), CCL11 (еотаксин) и CCL24 (еотаксин 2) (133,134).

Активацијом еозинофила под утицајем Т2 цитокина, што представља другу фазу њиховог животног циклуса, они постају главно место производње еозинофилних хемокина, којима се привлачи још већи број еозинофила ка месту хроничног запаљења. Еспресија информационе РНК (иРНК) за RANTES знатно више изражена у ткиву носних полипа, како атопичних, тако и неатопичних болесника, у односу на ткиво здраве слузокоже (135).

Мајер и сарадници (Meuer) (136) су запазили да носни полипи с израженијом ткивном еозинофилијом имају виши ниво генске експресије за RANTES од полипа с мање израженом еозинофилијом. Новије студије указују на повезаност између концентрације MIP-1 α у носном секрету и ендоскопског налаза, степена проширености синусне болести дијагностички обрађеном компјутеризованом томографијом (СТ) и броја еозинофила у ткиву слузокоже носа (137).

Еозинофили мигрирају ка периферним ткивима преко процеса трансендотелијалне миграције. Фаза трансендотелне миграције еозинофила, трећа фаза њиховог животног циклуса, посредована је бројним адхезивним молекулама који постоје на површини ендотелних ћелија строге полипа, међу којима је најзначајнији VCAM-1. Осим што стимулишу раст и сазревање еозинофила, IL-3, IL-5, IL-6 и GM-CSF такође стимулишу повећање њихове активности. Наведени цитокини продужавају

живот еозинофила одлагањем програмиране ћелијске смрти. Даље, IL-3, IL-5, IL-6 и GM-CSF повећавају токсичност еозинофила, подстичу производњу супероксида, интензивирају њихову способност за фагоцитозу и дегранулацију (138,139).

Повећане концентрације Th2 цитокина, нарочито IL-5 и IL-6 у носном секрету, као и у ткиву носних полипа, могу нам указати на постојање интензивнијег запаљенског одговора (140).

Према резултатима једне претходне студије, концентрације снажног проинфламаторног цитокина IL-6 у носном секрету високо корелирају са бројем еозинофила у ткиву носних полипа (141).

Овако интензивна производња проинфламаторних медијатора свакако утиче на начин клиничког испољавања болести. У случајевима удружености носно- синусне полипозе са алергијским ринитисом, није уочена корелација између концентрација Th2 цитокина у носном секрету и броја еозинофила у ткиву полипа, као ни корелација између концентрације цитокина и клиничких показатеља испољености овог обољења. Постојање алергије не утиче на носне симптоме, ендоскопски и СТ налаз параназалних шупљина (142).

Четврта фаза у животном циклусу еозинофила је фаза дегранулације и ослобађања њихових секреторних производа. Представља најзначајнију појаву у запаљењима која су посредована еозинофилима. Ова фаза се карактерише накупљањем тзв. катјонских гранула и других биолошких производа из цитоплазме еозинофила, а након тога ослобађањем њиховог садржаја. Ове супстанце могу да оштете епителне ћелије дисајних путева, што може да проузрокује локални едем ткива и изазвати хиперреактивност горњих дисајних путева у алергијском ринитису. Грануле садрже лизозомалне хидролазе, али и протеине који су специфични за еозинофиле, као што су MBP (енгл. Major basic protein), еозинофилни катјонски протеин (енгл. Eosinophil cationic protein – ECP) и неуротоксин произведен у еозинофилима (енгл. Eosinophil derived neurotoxin – EDN). MBP има функцију привлачења молекула воде у епителне и друге ћелије, као и у међућелијски простор носних полипа, доводећи до едема, што је једна од главних хистолошких одлика ових лезија. Јони натријума и хлора с молекулима воде напуштају епителне ћелије и накупљају се у међућелијском простору, уз накупљање запаљењског ексудата и ретенцијом албумина, чиме се објашњава настанак едема у строми полипа (143).

Еозинофилне грануле садрже такође и еозинофилну пероксидазу (енгл. Eosinophil peroxidase – EPO), која катализује производњу хипохлорне и хипобромне киселине, које код алергијског ринитиса, хроничног риносинуситиса и носно- синусне полипозе могу узроковати локална оштећења ткива и посредно појаву екстрацелуларног HSP-а. Студије Зурака и Сун Ди-ја су показале да је концентрација ECP у носном секрету у високој корелацији са интензитетом симптома код особа оболелих од носно- синусне полипозе (119), али и са бројем еозинофила у ткиву носних полипа (120).

Активирани еозинофили као и базофили и мастоцити производе и ослобађају производе метаболизма липида, као што су леукотријени и простагландини, који су и снажни медијатори запаљенске реакције (144).

У око 10% носних инфламаторних полипа, хронично запаљење није посредовано доминантно еозинофилима, већ пре свега неутрофилима и лимфоцитима. IL-8 је снажан хемотактички и активирајући фактор, пре свега за неутрофиле, али у мањој мери и за еозинофиле. Моноцити, макрофаги и епителне ћелије слузокоже дисајних путева су примарно место стварања овог цитокина. Међутим, новија сазнања указују да су у хроничном риносинуситису и носно- синусној полипозу главни извори овог хемокина фибробласти у ламини проприји. Лучење овог цитокина у фибробластима привлачи и активира велики број неутрофила ка месту запаљења. Активирани неутрофиле, који мигрирају ка упаљеној слузокожи носа, сада продукују нове количине IL-8, што за последицу има одржавање и појачање хроничне инфламације (145).

Грануле активираних еозинофила садрже токсичне протеине и највећи део ових токсина представља ЕСР (104). Експериментална истраживања у вези са активношћу еозинофила су показала цитотоксичне ефекте на респираторни епител и ламину проприју, што доводи до цилиостазе (заустављања мукоцилијарног транспорта) и оштећења епитела, као и едема субепитела (83,117). Једно претходно испитивање показало је позитивну корелацију између концентрације ЕСР у носном секрету и броја еозинофила у носној слузници пацијенти са перенијалним алергијским ринитисом и назалном полипозом (93). Након примене интраназалног кортикостероидног спреја, концентрација ЕСР у носном секрету се значајно смањује, док, паралелно с тим, долази до смањења интензитета симптома болести (93). Дакле, концентрација ЕСР у носном секрету се може користити за праћење активности еозинофилне инфламације у различитим облицима носно-синусних запаљења, као и за процену ефикасности лечења.

Активност мастоцита је добро описана у патофизиологији алергијског ринитиса, али се наводи да игра значајну улогу и у патогенези носне полипозе (117). Триптаза је протеолитички ензим, депонован у секреторним гранулама мастоцита. Ослобађа се током процеса дегранулације мастоцита заједно са хистамином. Међутим, триптаза има много дужи полуживот у плазми у поређењу са хистамином, што упућује на закључак да је праћење концентрације триптазе у телесним течностима, укључујући и носни секрет, знатно поузданији параметар за процену функције мастоцита у односу на праћење концентрације хистамина (82,117). Детектована је и повишена вредност триптазе у носном секрету код пацијената са носном полипозом, што је у складу са резултатима других студија које су верификовале повећан број мастоцита и повећане концентрације триптазе у слузници и носном секрету код пацијената са носном полипозом. Такође, концентрација триптазе у носном секрету је била у корелацији са интензитетом назалне опструкције интензитетом назалне секреције, што сугерише закључак да би постојала велика корист у лечењу носне полипозе уколико би терапије била усмерена на дејство мастоцита (83). Концентрација триптазе су биле значајно повишене у узорку носног секрета код пацијената са носном полипозом него код пацијената са хроничним риносинуситисом без носне полипозе и у корелацији са скором симптома (82).

Присуство сензорних, парасимпатичких и симпатичких нерава који садрже неуропептиде у носној слузокожи код људи је добро испитано. Познато је да продукција неуропептида, пре свега супстанце Р, (calcitonin gene-related peptide - CGRP) и (neurokinin a – NKA) игра важну улогу у патогенези алергијског и неалергијског хроничног ринитиса. Са друге стране, секреција неуропептида у носној полипозу није

у довољној мери истражена код пацијената са носном полипозом. Као главни неуропептид у носној слузокожи, супстанца Р изазива вазодилатацију, повећану васкуларну пермеабилност и појачану активност жлезда (146). Резултати имунохистохемијске студије коју су реализовали Кин и Арнолд (Kühn and Arnold) (147) су показали да је супстанца Р подједнако заступљена у ткиву носних полипа као и у здравој слузокожи носа. Наши резултати, међутим, сугеришу виши ниво производње супстанце Р код пацијената са назалном полипозом него код испитаника са клинички здравом носном слузницом. Нисмо нашли статистичку разлику у концентрацији супстанце Р у носном секрету између алергичних и неалергичних пацијената са носном полипозом. Тај детаљ упућује на закључак да овај неуропептид можда нема кључну улогу у патогенези алергијског облика назалних полипа. Са друге стране, према нашим резултатима, концентрације супстанце Р су у позитивним корелацијама са концентрацијама HSP70, ECP и триптазе у узорцима носног секрета. Ове корелације се могу објаснити чињеницом да ECP и триптаза током хроничног запаљеног процеса оштећују епител носне слузнице, чиме се базална мембрана „оголи“ са својим нервним завршцима. На тај начин, крајеви нервних влакана постају више стимулирани на производњу супстанце Р, што доводи до повећаног ослобађања овог неуропептида у носном секрету.

Резултати ове студије показују умерену негативну корелацију између концентрације CC16 у носном секрету и интензитета назалних симптома. Такође, концентрација CC16 показује умерену до високу негативну корелацију са остала четири инфламаторна медијатора. CC16 је мали антиинфламаторни протеин, који се првенствено лучи у секреторним Клара ћелијама носног и бронхоалвеоларног респираторног епитела. Овај протеин има важну улогу против оксидативног стреса и хроничног запаљења, с обзиром да инхибира ензиме фосфолипазу А2 и трансглутаминазу у дисајним путевима пацијената са алергијским ринитисом и хроничним риносинуситисом, као и код људи изложених аерозагађењу. Претходна истраживања су показала да током хроничних еозинофилних запаљења слузнице горњег дисајног пута, као што се дешава код перенијалног алергијског ринитиса и носне полипозе, долази до смањене продукције CC16. Такође је уочена значајна негативна корелација између концентрације CC16 са једне и ECP и еотаксина-2 са друге стране у носном секрету пацијената са носном полипозом и перенијалним алергијским ринитисом (85,147,148). Након примене топикалне кортикостероидне терапије, долази до пораста концентрације CC16 у носном секрету и код пацијената са перенијалним алергијским ринитисом и код пацијената са носном полипозом. Истовремено, пораст концентрације CC16 у носном секрету прати побољшање носних симптома. Ови детаљи сугеришу да би CC16 измерен у носном секрету могао бити поуздан маркер за процена функционалног опоравка носне слузнице током локалне кортикостероидне терапије (148).

6 Закључак

1. Екстрацелуларни HSP70 би могао играти значајну улогу у патогенези носне полипозе. На овај закључак сугерише повећана вредност овог протеина и позитивна колерација са интензитетом носних симптома и другим медијаторима запаљења.
2. Чињеница да концентрације овог медијатора измерене у носном секрету добро корелирају са симптомима носне полипозе сугеришу на закључак да праћење концентрације овог медијатора у носном секрету може послужити као поуздан маркер за процену интензитета хроничног запаљења у овој болести.
3. Позитивне корелације у концентрацијама екстрацелуларног HSP70, ECP, триптазе и супстанце P, и негативне корелације свих ових медијатора и CC16 у носном секрету указују на интензивну и оркестрирану активност ћелија респираторног епитела, еозинофила, мастоцита, паралелно са неурогеним запаљењем у патогенези хроничног инфламаторног процеса код носне полипозе.

7 Литература

1. Pahor AL, Farid A. Ni-Ankh-Sekhmet: First rhinologist in history. *J Laryngol Otol.* 2003;117(11):846–9.
2. Yakoot, A.A. The journey of the evolution of rhinology. *Egypt J Otolaryngol* 29, 136–142 (2013).
3. Tajudeen BA, Kennedy DW. Thirty years of endoscopic sinus surgery: What have we learned? *World J Otorhinolaryngol - Head Neck Surg.* 2017;3(2):115–21.
4. Lederer FL. The problem of nasal polyps. *J Allergy.* 1959;30(5):420–32.
5. Cappello ZJ, Minutello K, Dublin AB. Anatomy, Head and Neck, Nose Paranasal Sinuses. 2023 Feb 11. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan–.*
6. Chiu TW, Shaw-Dunn J, McGarry GW. Woodruff's plexus. *J Laryngol Otol.* 2008;122(10):1074–7.
7. Freeman SC, Karp DA, Kahwaji CI. Physiology, Nasal. [Updated 2022 May 8]. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan*
8. Coker AK. Fluid Flow. In: *Fortran Programs for Chemical Process Design, Analysis, and Simulation [Internet]. Elsevier; 1995 [cited 2023 Apr 30]. p. 150–255. Available from:*
9. Laffort P, Patte F, Etcheto M. OLFACTORY CODING ON THE BASIS OF PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES. *Ann N Y Acad Sci.* 1974;237:193–208.
10. Jones N. The nose and paranasal sinuses physiology and anatomy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001 Sep;51(1–3):5–19.
11. Pleis JR, Lucas JW, Ward BW. Summary health statistics for U.S. adults: *National Health Interview Survey, 2008. Vital Health Stat* 10. 2009;(242):1–157.
12. Tomassen P, Vandeplass G, Van Zele T, Cardell LO, Arebro J, Olze H, et al. Inflammatory endotypes of chronic rhinosinusitis based on cluster analysis of biomarkers. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(5):1449-1456.e4.
13. Lou H, Zhang N, Bachert C, Zhang L. Highlights of eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps in definition, prognosis, and advancement. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2018;8(11):1218–25.
14. 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.
15. Chaaban MR, Walsh EM, Woodworth BA. Epidemiology and Differential Diagnosis of Nasal Polyps. *Am J Rhinol Allergy.* 2013;27(6):473–8.

16. Mygind N. Nasal polyposis, eosinophil dominated inflammation, and allergy. *Thorax*. 2000;55 Suppl 2(Suppl 2):S79-S83.
17. Larsen PL, Tos M. Nasal polyps: epithelium and goblet cell density. *The Laryngoscope*. 1989;99(12):1274–80.
18. Jeican II, Gheban D, Barbu-Tudoran L, Inișca P, Albu C, Ilieș M, et al. Respiratory Nasal Mucosa in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps versus COVID-19: Histopathology, Electron Microscopy Analysis and Assessing of Tissue Interleukin-33. *J Clin Med*. 2021;10(18):4110.
19. Jeong W, Lee CH, Cho S, Rhee C. Eosinophilic Allergic Polyp: A Clinically Oriented Concept of Nasal Polyp. *Otolaryngol Neck Surg*. 2011;144(2):241–6.
20. Salaria N, Sharma N, Garg U, Saluja SK, Agarwal R. Inflammatory Septal Nasal Polyp. *Iran J Otorhinolaryngol*. 2015;27(81):319–23.
21. Khan RA, Chernock RD, Lewis JS. Seromucinous hamartoma of the nasal cavity: a report of two cases and review of the literature. *Head Neck Pathol*. 2011;5(3):241–7.
22. Tuziak T, Kram A, Woyke S. Edematous nasal polyp with atypical stromal cells misdiagnosed cytologically as rhabdomyosarcoma. A case report. *Acta Cytol*. 1995;39(3):521–4.
23. Assiri KS, Al-Ahmari MS, Alshahrani MS, Mastor A, Elhawary R. Clinical and Pathological Features of Angiomatous Nasal Polyps: A Report of Four Cases and Review of Literature. *Cureus*. 2020 ;12(4):e7642.
24. Polypus of the Nose. By Eugene S. Yonge, M.D. 174 pp. London and Manchester: Sherratt and Hughes. 1906. *J Laryngol Rhinol Otol*. 1906;21(12):655–6.
25. Kern RA, Schenck HP. Allergy a constant factor in the etiology of so-called mucous nasal polyps. *J Allergy*. 1933;4(6):485–97.
26. Caplin I, Haynes JT, Spahn J. Are nasal polyps an allergic phenomenon? *Ann Allergy*. 1971;29(12):631–4.
27. Bunnag C, Pacharee P, Vipulakom P, Siriyananda C. A study of allergic factor in nasal polyp patients. *Ann Allergy*. 1983;50(2):126–32.
28. Michaels L. Non-infective Inflammatory Conditions. In: Ear, Nose and Throat Histopathology [Internet]. London: Springer London; 1987 [cited 2023 Apr 30]. p. 153–64.
29. Jacobs RL, Freedman PM, Boswell RN. Nonallergic rhinitis with eosinophilia (NARES syndrome). Clinical and immunologic presentation. *J Allergy Clin Immunol*. 1981;67(4):253–62.
30. Leone C, Teodoro C, Pelucchi A, Mastropasqua B, Cavigioli G, Marazzini L, et al. Bronchial responsiveness and airway inflammation in patients with nonallergic rhinitis with eosinophilia syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;100(6 Pt 1):775–80.

31. Bernstein J, Gorfien J, Noble B. Role of allergy in nasal polyposis: A review. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1995;113(6):724–32.
32. Bernstein J, Gorfien J, Noble B, Yankaskas J. Nasal polyposis: Immunohistochemistry and bioelectrical findings (a hypothesis for the development of nasal polyps). *J Allergy Clin Immunol.* 1997;99(2):165–75.
33. Al-Bazzaz F, Yadava VP, Westenfelder C. Modification of Na and Cl transport in canine tracheal mucosa by prostaglandins. *Am J Physiol.* 1981;240(2):F101-105.
34. Bernstein JM, Yankaskas JR. Increased Ion Transport in Cultured Nasal Polyp Epithelial Cells. *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg.* 1994;120(9):993–6.
35. Mainz JG, Koitschev A. Pathogenesis and management of nasal polyposis in cystic fibrosis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2012;12(2):163–74.
36. Bernstein JM, Kansal R. Superantigen hypothesis for the early development of chronic hyperplastic sinusitis with massive nasal polyposis: *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;13(1):39–44.
37. Zwierz K, Wielgat P, Borzym-Kluczyk M. [Molecular mechanisms regulating transport of low molecular weight substances in the hepatocyte]. *Postepy Hig Med Dosw.* 2003;57(1):91–116.
38. Sadowski M, Borzym-Kluczyk M, Stypułkowska A, Wielgat P, Zwierz K. The intercellularmatrix of the vein wall. *PRZEGLĄD Flebol.* 2006;14(4):141–9.
39. Hardingham TE, Perkins SJ, Muir H. Molecular conformations in proteoglycan aggregation. *Biochem Soc Trans.* 1983;11 Pt 2:128–30.
40. Kawano M, Okada K, Muramoto H, Morishita H, Omura T, Inoue R, et al. Simultaneous, clonally identical T cell expansion in tonsil and synovium in a patient with rheumatoid arthritis and chronic tonsillitis. *Arthritis Rheum.* 2003;48(9):2483–8.
41. Vento S, Virkkula P. Nenän polyypit [Nasal polyposis]. *Duodecim.* 2012;128(2):219-24.
42. Alam MM, Fakir MAY, Chowdhury MA. A review of nasal polyposis and surgical management. *Bangladesh J Otorhinolaryngol.* 1970;14(2):71–4.
43. Wen W, Liu W, Zhang L, Bai J, Fan Y, Xia W, et al. Increased neutrophilia in nasal polyps reduces the response to oral corticosteroid therapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129(6):1522-1528.e5.
44. Steinke JW, Crouse CD, Bradley D, Hise K, Lynch K, Kountakis SE, et al. Characterization of interleukin-4-stimulated nasal polyp fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2004;30(2):212–9.
45. Tos M, Sasaki Y, Ohnishi M, Larsen P, Drake-Lee AB. Fireside conference 2. Pathogenesis of nasal polyps. *Rhinol Suppl.* 1992;14:181-5

46. Lee JY, Lee SH, Lee HM, Lee SH, Jung HH, Lee SW, et al. Analysis of gene expression profiles of normal human nasal mucosa and nasal polyp tissues by SAGE. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118(1):134–42.
47. Chojnowska, Sylwia et al. “Etiopathogenesis of nasal polyps.” *Progress in Health Sciences* 3 (2013): 151-159.
48. Lee CH, Rhee CS, Min YG. Cytokine gene expression in nasal polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1998;107(8):665–70.
49. Van Zele T, Claeys S, Gevaert P, Van Maele G, Holtappels G, Van Cauwenberge P, et al. Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators. *Allergy.* 2006 ;61(11):1280–9.
50. Van Zele T, Claeys S, Gevaert P, Van Maele G, Holtappels G, Van Cauwenberge P, et al. Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators. *Allergy.* 2006;61(11):1280–9.
51. Soler ZM, Schlosser RJ. The role of fungi in diseases of the nose and sinuses. *Am J Rhinol Allergy.* 2012;26(5):351–8.
52. Corrigan C, Mallett K, Ying S, Roberts D, Parikh A, Scadding G, et al. Expression of the cysteinyl leukotriene receptors cysLT(1) and cysLT(2) in aspirin-sensitive and aspirin-tolerant chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115(2):316–22.
53. Chao SS, Graham SM, Brown CL, Kline JN, Hussain I. Cysteinyl leukotriene 1 receptor expression in nasal polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2006;115(5):394–7.
54. Thivierge M, Doty M, Johnson J, Stanková J, Rola-Pleszczynski M. IL-5 up-regulates cysteinyl leukotriene 1 receptor expression in HL-60 cells differentiated into eosinophils. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2000;165(9):5221–6.
55. Sasama J, Sherris DA, Shin SH, Kephart GM, Kern EB, Ponikau JU. New paradigm for the roles of fungi and eosinophils in chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;13(1):2–8.
56. Patou J, Gevaert P, Van Zele T, Holtappels G, van Cauwenberge P, Bachert C. Staphylococcus aureus enterotoxin B, protein A, and lipoteichoic acid stimulations in nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(1):110–5.
57. Conley DB, Tripathi A, Seiberling KA, Schleimer RP, Suh LA, Harris K, et al. Superantigens and chronic rhinosinusitis: skewing of T-cell receptor V beta-distributions in polyp-derived CD4+ and CD8+ T cells. *Am J Rhinol.* 2006;20(5):534–9.
58. Lane AP, Truong-Tran QA, Schleimer RP. Altered expression of genes associated with innate immunity and inflammation in recalcitrant rhinosinusitis with polyps. *Am J Rhinol.* 2006;20(2):138–44.

59. Chen YS, Langhammer T, Westhofen M, Lorenzen J. Relationship between matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 and IL-5, IL-8 in nasal polyps. *Allergy*. 2007;62(1):66–72.
60. Richer SL, Truong-Tran AQ, Conley DB, Carter R, Vermylen D, Grammer LC, et al. Epithelial genes in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *Am J Rhinol*. 2008;22(3):228–34.
61. Kato A, Truong-Tran AQ, Scott AL, Matsumoto K, Schleimer RP. Airway epithelial cells produce B cell-activating factor of TNF family by an IFN-beta-dependent mechanism. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2006;177(10):7164–72.
62. Yenari MA, Liu J, Zheng Z, Vexler ZS, Lee JE, Giffard RG. Antiapoptotic and anti-inflammatory mechanisms of heat-shock protein protection. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1053:74–83.
63. Capocci M, Santoro MG, Hightower LE. The life and times of Ferruccio Ritossa. *Cell Stress Chaperones*. 2014;19(5):599–604.
64. Zhang H, Gong W, Wu S, Perrett S. Hsp70 in Redox Homeostasis. *Cells*. 2022;11(5):829.
65. Ferat-Osorio E, Sánchez-Anaya A, Gutiérrez-Mendoza M, et al. Heat shock protein 70 down-regulates the production of toll-like receptor-induced pro-inflammatory cytokines by a heat shock factor-1/constitutive heat shock element-binding factor-dependent mechanism. *J Inflamm (Lond)*. 2014;11:19.
66. Brocchieri L, Conway De Macario E, Macario AJ. hsp70 genes in the human genome: Conservation and differentiation patterns predict a wide array of overlapping and specialized functions. *BMC Evol Biol*. 2008;8(1):19.
67. Zhu D, Dix DJ, Eddy EM. HSP70-2 is required for CDC2 kinase activity in meiosis I of mouse spermatocytes. *Dev Camb Engl*. 1997;124(15):3007–14.
68. Leung TK, Rajendran MY, Monfries C, Hall C, Lim L. The human heat-shock protein family. Expression of a novel heat-inducible HSP70 (HSP70B') and isolation of its cDNA and genomic DNA. *Biochem J*. 1990;267(1):125–32.
69. Radons J. The human HSP70 family of chaperones: where do we stand? *Cell Stress Chaperones*. 2016;21(3):379–404.
70. Pockley AG, Henderson B, Multhoff G. Extracellular cell stress proteins as biomarkers of human disease. *Biochem Soc Trans*. 2014;42(6):1744–51.
71. Pockley AG, Henderson B, Multhoff G. Extracellular cell stress proteins as biomarkers of human disease. *Biochem Soc Trans*. 2014;42(6):1744–51.
72. Vega VL, Rodríguez-Silva M, Frey T, Gehrman M, Diaz JC, Steinem C, et al. Hsp70 Translocates into the Plasma Membrane after Stress and Is Released into the Extracellular

- Environment in a Membrane-Associated Form that Activates Macrophages. *J Immunol.* 2008;180(6):4299–307.
73. Swierczynska M, Nizankowska-Mogilnicka E, Zarychta J, Gielicz A, Szczeklik A. Nasal versus bronchial and nasal response to oral aspirin challenge. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112(5):995–1001.
74. Corrigan C, Mallett K, Ying S, Roberts D, Parikh A, Scadding G, et al. Expression of the cysteinyl leukotriene receptors cysLT(1) and cysLT(2) in aspirin-sensitive and aspirin-tolerant chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115(2):316–22.
75. Malusecka E, Krzyzowska-Gruca S, Gawrychowski J, Fiszer-Kierzkowska A, Kolosza Z, Krawczyk Z. Stress proteins HSP27 and HSP70i predict survival in non-small cell lung carcinoma. *Anticancer Res.* 2008;28(1B):501–6.
76. Lazaris AC, Theodoropoulos GE, Aroni K, Saetta A, Davaris PS. Immunohistochemical expression of C-myc oncogene, heat shock protein 70 and HLA-DR molecules in malignant cutaneous melanoma. *Virchows Arch.* 1995;426(5):461–467.
77. Syrigos KN, Harrington KJ, Karayiannakis AJ, Sekara E, Chatziyianni E, Syrigou EI, et al. Clinical significance of heat shock protein-70 expression in bladder cancer. *Urology.* 2003;61(3):677–80.
78. Navarro S, Aleu J, Jiménez M, Boix E, Cuchillo CM, Nogués MV. The cytotoxicity of eosinophil cationic protein/ribonuclease 3 on eukaryotic cell lines takes place through its aggregation on the cell membrane. *Cell Mol Life Sci.* 2008;65(2):324–37.
79. Bystrom J, Amin K, Bishop-Bailey D. Analysing the eosinophil cationic protein - a clue to the function of the eosinophil granulocyte. *Respir Res.* 2011;12(1):10.
80. Joos GF, Germonpre PR, Pauwels RA. Neurogenic inflammation in human airways: is it important? *Thorax.* 1995;50(3):217–9.
81. O'Connor TM, O'Connell J, O'Brien DI, Goode T, Bredin CP, Shanahan F. The role of substance P in inflammatory disease. *J Cell Physiol.* 2004;201(2):167–80.
82. Payne V, Kam PCA. Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance. *Anaesthesia.* 2004;59(7):695–703.
83. Reynolds SD, Malkinson AM. Clara cell: Progenitor for the bronchiolar epithelium. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010;42(1):1–4.
84. Shin SH, Park JY, Jeon CH, Choi JK, Lee SH. Quantitative Analysis of Eotaxin and RANTES Messenger RNA in Nasal Polyps: Association of Tissue and Nasal Eosinophils: *The Laryngoscope.* 2000;110(8):1353–7.
85. Wang Y, Wang ZF, Zhang Z, Su Y. Expression of Clara cell 10-kDa protein and trefoil factor family 1 in patients with chronic rhinosinusitis and nasal polyps. *Exp Ther Med.* 2018;15(3):2541–2546.

86. Perić A, Mirković CŠ, Vojvodić D. Clara cell protein 16 release from the nasal mucosa in allergic rhinitis, chronic rhinosinusitis, and exposure to air pollutants. *Arch Ind Hyg Toxicol*. 2018;69(3):215–9.
87. Lund VJ, Mackay IS. Staging in rhinosinusitis. *Rhinology*. 1993;31(4):183–4.
88. Tsicopoulos A, Shimbara A, De Nadai P, Aldewachi O, Lamblin C, Lassalle P, et al. Involvement of IL-9 in the bronchial phenotype of patients with nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(3):462–9.
89. Malm L. Review: Assessment and Staging of Nasal Polyposis: Introduction. *Acta Otolaryngol (Stockh)*. 1997;117(4):465–7.
90. Lildholdt T, Rundcrantz H, Bende M, Larsen K. Glucocorticoid Treatment for Nasal Polyps: The Use of Topical Budesonide Powder, Intramuscular Betamethasone, and Surgical Treatment. *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg*. 1997;123(6):595–600.
91. Orlandi RR, Kingdom TT, Hwang PH, Smith TL, Alt JA, Baroody FM, et al. International Consensus Statement on Allergy and Rhinology: Rhinosinusitis: International Consensus on Rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016;6(S1):S22–209.
92. Fokkens W, Lund V, Mullol J, European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps group. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. *Rhinol Suppl*. 2007;20:1–136.
93. Špadijer-Mirković C, Perić A, Belić B, Vojvodić D. Clara cell protein 16 and eosinophil cationic protein production in chronically inflamed sinonasal mucosa: CC16 production in chronic sinonasal diseases. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016;6(5):529–36.
94. Aleksandar P, Danilo V, Milanko M, Nenad M, Aleksandar V, Snezana ZS. Sampling of nasal secretions for flow-cytometric analysis in inflammatory diseases of the nose and paranasal sinuses. *Med Cas*. 2013;47(1):30–5.
95. 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(29):1–464.
96. Djupesland PG, Reitsma S, Hopkins C, Sedaghat AR, Peters A, Fokkens WJ. Endoscopic grading systems for nasal polyps: are we comparing apples to oranges? *Rhinology*. 2022;60(3):169–76.
97. Watelet JB, Gevaert P, Holtappels G, Van Cauwenberge P, Bachert C. Collection of nasal secretions for immunological analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2004;261(5):242–6.
98. Jankowski R, Persoons M, Foliguet B, Coffinet L, Thomas C, Verient-Montaut B. Eosinophil count in nasal secretions of subjects with and without nasal symptoms. *Rhinology*. 2000;38(1):23–32.

99. Mercke U, Lindberg S, Dolata J. The role of neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in the mucociliary defence of the rabbit maxillary sinus. *Rhinology*. 1987;25(2):89–93.
100. Ohkubo K, Ikeda M, Pawankar R, Gotoh M, Yagi T, Okuda M. Mechanisms of IL-6, IL-8, and GM-CSF release in nasal secretions of allergic patients after nasal challenge. *Rhinology*. 1998;36(4):156–61.
101. Pupek M, Mikulewicz W, Mielnik J, Batycka B, Katnik-Prastowska I. Time-dependent observations of secretion marker levels in nasal secretion after histamine and methacholine provocations. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2003;51(4):259–65.
102. De Corso E, Baroni S, Romitelli F, Luca L, Di Nardo W, Passali GC, et al. Nasal lavage CCL24 levels correlate with eosinophils trafficking and symptoms in chronic sino-nasal eosinophilic inflammation. *Rhinol J*. 2011;49(2):174–9.
103. Tsybikov NN, Egorova EV, Kuznik BI, Fefelova EV, Magen E. Heat shock protein 70 and anti-heat shock protein 70 antibodies in nasal secretions of patients with chronic rhinosinusitis. *Allergy Rhinol (Providence)*. 2016;7(1):14-20
104. Kramer MF, Burow G, Pfrogner E, Rasp G. In vitro diagnosis of chronic nasal inflammation. *Clin Immunol Allergy*. 2004;34(7):1086–92.
105. Bausero MA, Page DT, Osinaga E, Asea A. Surface Expression of Hsp25 and Hsp72 Differentially Regulates Tumor Growth and Metastasis. *Tumor Biol*. 2004;25(5–6):243–51.
106. Mambula SS, Calderwood SK. Heat Shock Protein 70 Is Secreted from Tumor Cells by a Nonclassical Pathway Involving Lysosomal Endosomes. *J Immunol*. 2006;177(11):7849–57.
107. Asea A. Mechanisms of HSP72 release. *J Biosci*. 2007;32(3):579–84.
108. Tamasauskienė L, Gasiuniene E, Sitkauskienė B. Translation, adaptation and validation of the total nasal symptom score (TNSS) for Lithuanian population. *Health Qual Life Outcomes*. 2021;19(1):54.
109. Badorrek P, Müller M, Koch W, Hohlfeld JM, Krug N. Specificity and reproducibility of nasal biomarkers in patients with allergic rhinitis after allergen challenge chamber exposure. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol*. 2017;118(3):290–7.
110. Johansson L, Akerlund A, Holmberg K, Melén I, Stierna P, Bende M. Evaluation of methods for endoscopic staging of nasal polyposis. *Acta Otolaryngol (Stockh)*. 2000;120(1):72–6.
111. Feng S, He Q, Fan Y, Mi J, Guo L, Hong H, et al. Nasal endoscopic findings and nasal symptoms in patients with asthma: a clinical study from a rhinological perspective. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2015;43(1):42–7.

112. Hopkins C, Browne JP, Slack R, Lund V, Brown P. The Lund-Mackay staging system for chronic rhinosinusitis: How is it used and what does it predict? *Otolaryngol Neck Surg.* 2007;137(4):555–61.
113. Gholam ADK, Gharibi R. Studying the relationship between the Lund Mackay score and response to medical treatment in patients with chronic sinusitis. *Int Tinnitus J.* 2021;24(2):96–101.
114. Hwang PH, Irwin SB, Griest SE, Caro JE, Nesbit GM. Radiologic Correlates of Symptom-Based Diagnostic Criteria for Chronic Rhinosinusitis. *Otolaryngol Neck Surg.* 2003;128(4):489–96.
115. Cohen-Kerem R, Marshak T, Uri N, Gruber M, Huberfeld O, Paz D, et al. Is Nasal Endoscopy of Diagnostic Value in Chronic Rhinosinusitis Without Nasal Polyps? *Ear Nose Throat J.* 2021;100(3):172–6.
116. Freitas MR de, Vasconcelos DN, Freitas AE de HA, Maia Filho JH, Castro e Silva C de. Nasal endoscopic and CT scan alterations of the paranasal sinuses as predictors of severity in patients with cystic fibrosis. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2013;79(4):480–6.
117. Min HJ, Yoon JH, Kim CH. HSP70 is associated with the severity of inflammation in chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy.* 2016;30(4):101–6.
118. Kim KS, Won HR, Park CY, Hong JH, Lee JH, Lee KE, et al. Analyzing Serum Eosinophil Cationic Protein in the Clinical Assessment of Chronic Rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy.* 2013;27(3):e75–80.
119. Sun DI, Joo YH, Auo HJ, Kang JM. Clinical significance of eosinophilic cationic protein levels in nasal secretions of patients with nasal polyposis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2009;266(7):981–6.
120. Perić A, Vojvodić D, Vukomanović-Đurđević B, Baletić N. Eosinophilic Inflammation in Allergic Rhinitis and Nasal Polyposis. *Arch Ind Hyg Toxicol.* 2011;62(4):341–8.
121. 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.
122. Beatrice F, Aluffi P, Bottomicca F, Perlasco L, Sartoris A. Poliposi nasale e sostanza P studio sperimentale: dati preliminari [Nasal polyps and substance P: a preliminary report]. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 1994;14 Suppl 41:35-39.
123. Drake-Lee A, Jones V, Lewin I, Nayyar S, Wells A, Stanworth D. Levels of substance P and IgE decapeptide in nasal polyp fluid and matching sera: a preliminary study. *J Laryngol Otol.* 1996;110(3):225–7.
124. Irander K, Palm JP, Borres MP, Ghafouri B. Clara cell protein in nasal lavage fluid and nasal nitric oxide - biomarkers with anti-inflammatory properties in allergic rhinitis. *Clin Mol Allergy.* 2012;10(1):4.

125. Johansson S, Keen C, Stahl A, Wennergren G, Benson M. Low levels of CC16 in nasal fluid of children with birch pollen-induced rhinitis. *Allergy*. 2005;60(5):638–42.
126. Liu Z, Lu X, Zhang XH, Bochner BS, Long XB, Zhang F, et al. Clara cell 10-kDa protein expression in chronic rhinosinusitis and its cytokine-driven regulation in sinonasal mucosa. *Allergy*. 2009;64(1):149–57.
127. Lin D, Lin H, Xiong X. Expression and Role of BAG-1 in Eosinophilic and Non-eosinophilic Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *Inflammation*. 2014;37(6):1912–8.
128. Takeno S, Hirakawa K, Ueda T, Furukido K, Osada R, Yajin K. Nuclear Factor-Kappa B Activation in the Nasal Polyp Epithelium: Relationship to Local Cytokine Gene Expression: *The Laryngoscope*. 2002;112(1):53–8.
129. Tomassen P, Vandeplass G, Van Zele T, Cardell LO, Arebro J, Olze H, et al. Inflammatory endotypes of chronic rhinosinusitis based on cluster analysis of biomarkers. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(5):1449-1456.
130. Assiri KS, Al-Ahmari MS, Alshahrani MS, Mastor A, Elhawary R. Clinical and Pathological Features of Angiomatous Nasal Polyps: A Report of Four Cases and Review of Literature. *Cureus*. 2020;12(4):e7642.
131. Lee CH, Rhee CS, Min YG. Cytokine gene expression in nasal polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1998;107(8):665–70.
132. Lou H, Zhang N, Bachert C, Zhang L. Highlights of eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps in definition, prognosis, and advancement. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2018;8(11):1218–25.
133. Gonzalo JA, Lloyd CM, Wen D, Albar JP, Wells TNC, Proudfoot A, et al. The Coordinated Action of CC Chemokines in the Lung Orchestrates Allergic Inflammation and Airway Hyperresponsiveness. *J Exp Med*. 1998;188(1):157–67.
134. Nickel R, Beck LA, Stellato C, Schleimer RP. Chemokines and allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;104(4):723–42.
135. Bartels J, Maune S, Meyer JE, Kulke R, Schlüter C, Röwert J, et al. Increased eotaxin-mRNA expression in non-atopic and atopic nasal polyps: comparison to RANTES and MCP-3 expression. *Rhinology*. 1997;35(4):171–4.
136. Meyer JE, Bartels J, Görögh T, Sticherling M, Rudack C, Ross DA, et al. The role of RANTES in nasal polyposis. *Am J Rhinol*. 2005;19(1):15–20.
137. Perić A, Baletić N, Sotirović J, Špadijer-Mirković C. Macrophage Inflammatory Protein-1 Production and Eosinophil Infiltration in Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2015;124(4):266–72.
138. Her E, Frazer J, Austen KF, Owen WF. Eosinophil hematopoietins antagonize the programmed cell death of eosinophils. Cytokine and glucocorticoid effects on eosinophils maintained by endothelial cell-conditioned medium. *J Clin Invest*. 1991;88(6):1982–7.

139. Stern M, Meagher L, Savill J, Haslett C. Apoptosis in human eosinophils. Programmed cell death in the eosinophil leads to phagocytosis by macrophages and is modulated by IL-5. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1992;148(11):3543–9.
140. Perić A, Vojvodić D. [Inflammatory mechanisms in nasal polyposis]. *Srp Arh Celok Lek*. 2014;142(11–12):740–6.
141. Perić A, Vojvodić D, Radulović V, Vukomanović-Đurđević B, Miljanović O. Correlation between cytokine levels in nasal fluid and eosinophil counts in nasal polyp tissue in asthmatic and non-asthmatic patients. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2011;39(3):133–9.
142. Perić A, Vojvodić D, Vukomanović-Durdevid B. Influence of allergy on clinical, immunological and histological characteristics of nasal polyposis. *B-ENT*. 2012;8(1):25–32.
143. Bernstein JM, Yankaskas JR. Increased Ion Transport in Cultured Nasal Polyp Epithelial Cells. *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg*. 1994;120(9):993–6.
144. Bernstein JM. Update on the Molecular Biology of Nasal Polyposis. *Otolaryngol Clin North Am*. 2005;38(6):1243–55.
145. Elmorsy S, El-Naggar MM, Abdel aal SM, Abou-elela MA. Sinus aspirates in chronic rhinosinusitis: fungal colonization of paranasal sinuses, evaluation of ICAM-1 and IL-8 and studying of immunological effect of long-term macrolide therapy. *Rhinology*. 2010;48(3):312-317.
146. Baraniuk JN. Neuropeptides. *Am J Rhinol*. 1998;12(1):9–16.
147. Kühn AG, Arnold W. Expression of vasoactive intestinal peptide, substance P and bombesin-flanking peptide in nasal polyps. *ORL J Oto-Rhino-Laryngol Its Relat Spec*. 1996;58(4):229–32.
148. Perić A, Mirković ČŠ, Đurđević BV, Perić AV, Vojvodić D. Eosinophil Chemokines and Clara Cell Protein 16 Production in Nasal Mucosa of Patients with Persistent Allergic Rhinitis. *Eurasian J Med*. 2017;49(3):178-182.

Биографија

Потпуковник др Александар Димић, оториноларинголог, рођен у Лесковцу 1973. године, где је завршио основно и средње образовање. Медицински факултет Универзитета у Нишу завршио је 1999. године са просечном оценом 7,68. Приправнички стаж обавио у ОБ Лесковац 2001. године. Радио као лекар опште праксе у копненој зони безбедности у периоду од 2002. до 2003. године и као начелник санитета Западно-Бачког округа и управник ГА Сомбор од 2003 до 2005. године. Специјализацију из оториноларингологије у ВМА Београд, започео је 2005., а завршио 2009. године са оценом 5 (одличан). Потом, радио као начелник ОРЛ кабинета ВМЦ Нови Београд - ЦВМУ у периоду од 2010. до 2013. године. Од 2014. лекар на Одељењу ринологије Клинике за оториноларингологију ВМА. Докторске студије Медицинског факултета у Крагујевцу уписао је 2017. године. У оквиру професионалног усавршавања, завршио је курс функционалне ендоскопске хирургије синуса, ВМА Београд 2010. године, курс ултразвучне дијагностике врата, ВМА Београд 2015. и курс ларингомикроскопске хирургије, КЦ Нови Сад.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:


Значај екстрацелуларног Heat shock протеина 70 у процени интензитета хроничног запаљења носне слузнице и клиничког статуса пацијената са носном полипозом

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

у _____ Београду _____, 2022. _____ године,


потпис аутора

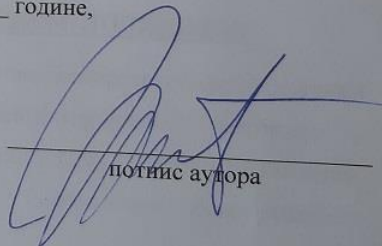
**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

Значај екстрацелуларног Heat shock протеина 70 у процени
интензитета хроничног запаљења носне слузнице и
клиничког статуса пацијената са носном полипозом

истоветне.

у _____ Београду _____, _____ 2022. _____ године,


_____ потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, _____ Александар Димић _____,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Значај екстрацелуларног Heat shock протеина 70 у процени интензитета хроничног запаљења носне слузнице и клиничког статуса пацијената са носном полипозом

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

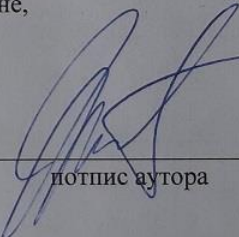
не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У _____ Београду _____, _____ 2022. _____ године,


_____ потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>