

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Деханов Артем Сергеевич

**Место нейтрофильных внеклеточных ловушек в патогенезе хронического
риносинусита**

3.1.3. Оториноларингология

3.2.7. Иммунология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, доцент

Никифорова Галина Николаевна

кандидат биологических наук

Воробьева Нина Викторовна

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Хронический риносинусит – определение, признаки, критерии диагноза.....	13
1.2. Распространенность хронического риносинусита	14
1.3. Использование опросников	15
1.4. Влияние хронического риносинусита на качество жизни.....	16
1.5. Классификация хронического риносинусита.....	16
1.6. Иммуитет и нейтрофилы.....	19
1.7. Нейтрофильные внеклеточные ловушки.....	21
1.8. Строение нейтрофильных внеклеточных ловушек.....	22
1.9. Роль внеклеточных ловушек в воспалительном процессе при хроническом риносинусите	23
1.10. Распределение внеклеточных ловушек в тканях при хроническом риносинусите.....	25
1.11. Влияние внеклеточных ловушек на отделяемое при хроническом риносинусите.....	25
1.12. Микробиота околоносовых пазух.....	27
1.13. Связь микробиоты слизистых оболочек и нейтрофильных внеклеточных ловушек	29
1.14. Взаимодействие нейтрофильных внеклеточных ловушек и вирусов	30
1.15. Возможности клинического анализа внеклеточных ловушек при хроническом риносинусите	31
1.16. Возможности терапевтического влияния на нейтрофильные внеклеточные ловушки	32

1.17. Азоксимера бромид: история создания, возможности применения	33
1.18. Современные подходы к лечению хронического риносинусита	35
1.19. Хирургическое вмешательство при хроническом риносинусите	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	40
2.1. Общая характеристика обследованных пациентов.....	40
2.1.1. Критерии включения	40
2.1.2. Критерии исключения	41
2.1.3. Распределение пациентов по полу и возрасту	42
2.1.4. Распределение пациентов по клиническим группам.....	42
2.2. Методы обследования пациентов	43
2.2.1 Оториноларингологическое исследование.....	44
2.2.2. Забор венозной крови.....	44
2.2.3. Забор назального секрета.....	44
2.2.4. Методы анализа сыворотки крови и назальных смывов	45
2.2.4.1. Определение комплексов миелопероксидаза – дезоксирибонуклеиновая кислота методом иммуноферментного анализа.....	45
2.2.4.2. Определение двуспиральной дезоксирибонуклеиновой кислоты с использованием красителя PicoGreen	46
2.2.5. Гистологическое исследование	46
2.2.6. Опросники	48
2.3 Статистическое исследование	50
ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РИНОСИНУСИТЕ	51
3.1. Исследование нейтрофильных внеклеточных ловушек в назальных смывах и венозной крови.....	51

3.2. Исследование нейтрофильных внеклеточных ловушек в гистологическом материале пациентов с хроническим риносинуситом	53
ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АЗОКСИМЕРА БРОМИДА НА НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЛОВУШКИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РИНОСИНУСИТЕ	60
4.1. Влияние Азоксимера бромида на нейтрофильные внеклеточные ловушки в назальных смывах и венозной крови пациентов с хроническим риносинуситом	61
4.2. Влияние Азоксимера бромида на нейтрофильные внеклеточные ловушки в слизистой оболочке пациентов с хроническим риносинуситом	64
4.3. Исследование влияния хронического риносинусита на качество жизни.....	66
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	73
ВЫВОДЫ.....	75
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	77
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	78
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	79

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Широкая распространенность хронического риносинусита (ХРС) в развитых странах и высокая степень влияния продолжительного стойкого воспаления слизистой оболочки околоносовых пазух на многие аспекты жизни человека обуславливают высокую актуальность данной патологии, лечебно-диагностические проблемы которой являются одними из наиболее обсуждаемых в медицине на протяжении многих лет.

Хронический синусит как воспалительное заболевание оказывает влияние на человека не только на уровне ЛОР-органов, но и провоцирует системную реакцию организма, что проявляется жалобами общего характера, такими как снижение трудоспособности, концентрации внимания, ухудшение настроения, нарушение сна, что подтверждено при использовании ряда опросников, оценивающих тяжесть течения болезни [32, 77, 91, 98, 108, 114].

Изучение патогенеза воспалительных процессов, лежащих в основе иммунного ответа при ХРС, может изменить имеющиеся подходы к тактике курации пациентов. Особенный интерес представляет изучение внеклеточных ловушек, в частности нейтрофильных (НВЛ) – относительно недавно обнаруженного фундаментального фактора иммунного ответа [125]. В настоящее время появляется все больше данных о значимой роли НВЛ при ХРС и других заболеваниях воспалительного характера.

Актуальность детального изучения иммунопатологических процессов при хроническом риносинусите определяет необходимость совершенствования существующих методов лечения, а также понимание сути воспалительных процессов, способствующих продолжительному течению болезни, системному характеру жалоб. Работа носит исследовательский характер и направлена на дополнение имеющихся знаний, касающихся роли НВЛ и процесса их образования (НЕТоза) в патогенезе ХРС без полипов средне-тяжелого и тяжелого течения.

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на достигнутые успехи в изучении этиологии и патогенеза хронического риносинусита, вопрос о степени влияния процессов образования и деградации внеклеточных ловушек на длительный воспалительный процесс в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух продолжает оставаться дискуссионным.

В зарубежных материалах приводятся противоречивые данные о роли НВЛ в воспалительных процессах, в том числе и при ХРС. Так, согласно мнению ряда авторов [48,124], НВЛ и нетотические нейтрофилы повышают миграцию гранулоцитов из кровяного русла в ткани и снижают проницаемость эпителия, что помогает изолировать очаг воспаления, таким образом противодействуя системной диссеминации патогена. В то же время другие исследователи говорят о потенциальном негативном влиянии НВЛ на патологический процесс, способности внеклеточных ловушек поддерживать воспалительную реакцию без необходимости защиты организма от внешних патогенов [9, 105, 123].

Получены данные о способности некоторых лекарственных препаратов – в частности макролидов, глюкокортикостероидов и других [85, 94, 105, 163], влиять на процессы НЕТоза при заболеваниях, в основе которых лежит продолжительный воспалительный процесс. Отечественными исследователями описано положительное влияние Азоксимера бромиды на НВЛ при различных заболеваниях [3, 35]. В связи с этим мы провели исследование влияния Азоксимера бромиды на процессы НЕТоза у пациентов с ХРС без полипов вне обострения, а также на качество их жизни при помощи визуально-аналоговых шкал (ВАШ) и опросника SNOT-22.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: определение места и роли нейтрофильных ловушек в развитии хронического риносинусита без полипов с изучением возможности

влияния иммуномодулирующей терапии на их образование.

Для достижения цели были сформулированы следующие задачи:

1. Оценить количество нейтрофильных ловушек в назальных смывах и периферической венозной крови у пациентов без воспалительных процессов в полости носа и околоносовых пазухах и у пациентов с хроническим риносинуситом без полипов вне обострения методом иммуноферментного анализа (ИФА);

2. Оценить количество и распределение нейтрофильных внеклеточных ловушек у пациентов с ХРС в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазухах методом иммуногистохимического анализа (ИГХ);

3. Оценить количество нейтрофильных ловушек в назальных смывах и периферической венозной крови у пациентов с хроническим риносинуситом после курса лечения иммуномодулятором Азоксимера бромидом методами ИФА и ИГХ;

4. Оценить и сопоставить клинический эффект после проведенного хирургического лечения и лечения Азоксимера бромидом на основании использования ВАШ и современного опросника SNOT-22.

Научная новизна

Открытие нейтрофильных внеклеточных ловушек произошло относительно недавно (2004 год) и в настоящее время по данной проблеме проведено более 6000 научных исследований. Их результатом стало дополнение представлений как о механизмах воспаления в целом, так и выявление вариантов образования НВЛ (с гибелью и без гибели нейтрофила). Однако исследованию нейтрофильных внеклеточных ловушек при хроническом риносинусите на сегодняшний день посвящены только единичные работы.

Новизна нашего диссертационного исследования заключается в том, что:

1. Впервые исследовано системное влияние локального воспалительного процесса в слизистой оболочке околоносовых пазух у пациентов с ХРС без полипов вне обострения на основе оценки маркеров НВЛ в назальных смывах и периферической крови методом иммуноферментного анализа;

2. Впервые исследовано количество НВЛ и нетотических нейтрофилов у пациентов без воспалительных процессов в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух;

3. Впервые проведена оценка количества нейтрофильных ловушек у пациентов с хроническим риносинуситом после курса лечения иммуномодулятором Азоксимера бромидом в назальных смывах, периферической крови и гистологическом материале;

4. Впервые проведена оценка клинического эффекта после проведенного хирургического лечения и лечения Азоксимера бромидом у пациентов с ХРС без полипов вне обострения на основании использования ВАШ и современного опросника SNOT-22.

Теоретическая и практическая значимость работы

На базе кафедры болезней уха, горла и носа, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ РФ (Сеченовский Университет) при сотрудничестве с отделом клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России было проведено изучение НВЛ и нетотических нейтрофилов при ХРС. Полученные данные дополняют имеющиеся представления о роли НЕТоза в воспалительном процессе при ХРС.

Практическая часть работы была направлена на изучение влияния Азоксимера бромида на процессы НЕТоза при интраназальном применении у пациентов с ХРС. Изменения, которые наблюдались в тканях, смывах и периферической крови показали, что снижение интенсивности процессов НЕТоза у пациентов с ХРС вне обострения коррелирует со снижением интенсивности жалоб, в соответствии с результатами изучения опросников.

Полученные в результате работы данные могут быть использованы для совершенствования существующих подходов к лечению пациентов с ХРС без полипов путем назначения Азоксимера бромида пациентам со средне-тяжёлым и

тяжелым течением патологического процесса, которым показано проведение хирургического лечения, с целью снижения выраженности жалоб как в предоперационном периоде, так и в качестве временной альтернативы функционального эндоскопического вмешательства на околоносовых пазухах.

Методология и методы исследования

Работа построена по классическому образцу и представляет собой одноцентровое проспективное открытое наблюдательное клиническое исследование, состоящее из опроса пациентов до и после проведенного лечения, сбора биологического материала до начала лечения, интраоперационно и после завершения лечения с последующим его изучением. Теоретический анализ современного состояния проблемы проведен путем поиска необходимой информации в открытых ресурсах E-Library, Scopus, Web of Scinece, Google Scholar, PubMed.

В диссертационной работе применены общепринятые методы исследования:

1. Проведены сравнительный иммуноферментный (назальных смывов и периферической крови) и иммуногистохимический (биоптаты) анализы биологического материала, полученного от пациентов с ХРС без полипов вне обострения и группы контроля без ХРС до и после лечения, а также интраоперационно.

2. Проведен сравнительный анализ результатов опроса пациентов с ХРС до и после проведенного хирургического и иммунокорректирующего лечения Азоксимера бромидом.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие на всех этапах диссертационного исследования: провел анализ отечественной и зарубежной литературы по

изучаемой проблеме, сформулировал цель и соответствующие ей задачи, исходя из актуальности и степени разработанности проблемы. На основании цели и задач автором был сформирован дизайн исследования, а также подобрана методология проведения работы. Автором проведен отбор больных, клинический осмотр, сбор анамнеза, анкетирование, составление электронной базы данных, статистическая обработка и анализ материала, интерпретация полученных результатов обследования, написание публикаций и диссертации.

Положения, выносимые на защиту

1. Нейтрофильные внеклеточные ловушки являются важной частью патогенеза ХРС без полипов и могут быть рассмотрены как одни из ведущих факторов в патогенезе стойкого воспалительного процесса в слизистых оболочках полости носа и околоносовых пазух.

2. Назначение Азоксимера бромида благоприятно влияет на состояние пациентов со средне-тяжелым и тяжелым течением ХРС без полипов вне обострения, что может быть использовано для совершенствования существующих методов лечения, в том числе в дополнение к функциональному эндоскопическому вмешательству или в качестве временной альтернативы при невозможности его проведения.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научных специальностей: 3.1.3. Оториноларингология (области исследования п.1 «Исследования по изучению этиологии, патогенеза и распространенности ЛОР-заболеваний» и п.2 «Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики ЛОР-заболеваний») и 3.2.7. Иммунология (области исследования п.5 «Разработка способов воздействия на иммунную систему с помощью фармакологических препаратов и методов

иммунобиотерапии. Исследование эффективности и безопасности этих воздействий»).

Степень достоверности и апробация результатов

Диссертация построена по доказательному сценарию, что обеспечено необходимым объемом исследуемого материала, а также адекватным современным дизайном исследования. Все данные, использованные для формирования основных научных положений работы, получены с использованием сертифицированного оборудования и материалов, включающих в себя комплекс лабораторных и микроскопических исследований. В работе применены современные методики математической обработки количественных данных; статистические критерии использованы после предварительной проверки на нормальность распределения; для попарного и множественного сравнения использованы соответствующие статистические критерии.

Основные положения работы опубликованы в сборнике тезисов IX международного Петербургского форума оториноларингологов (Россия, 5–7 октября 2020 г.), доложены и обсуждены на XIX Московской научно-практической конференции «Оториноларингология: традиции и современность», посвященной 130-летию со дня рождения выдающегося советского оториноларинголога, дважды лауреата Ордена Ленина, Заслуженного деятеля науки РСФСР, д.м.н., профессора Трутнева Василия Кузьмича (Россия, 19 мая 2021), Пятой Международной междисциплинарной научно-практической онлайн конференции «Вопросы интеграции и междисциплинарного взаимодействия в оториноларингологии» (Россия, 4-5 июня 2021), XX съезде оториноларингологов России (Россия, 8 сентября 2021), VI Всероссийском форуме с международным участием «Междисциплинарный подход к лечению заболеваний головы и шеи» (Россия, 13-14 октября 2022), Научно-практической конференции «Весенний консилиум. Просто о сложном» памяти академика РАМН. д.м.н. Юрия Михайловича Овчинникова (Россия, 15 марта 2023).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 6 работ, в том числе 1 статья в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 2 статьи в изданиях, индексируемых в Scopus, PubMed, 2 иные публикации, 1 публикация в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 96 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, глав собственных исследований, выводов, списка литературы. Работа иллюстрирована 10 таблицами и 12 рисунками. Список литературы включает в себя 164 литературных источников, из них - 46 российских и 118 - зарубежных. Диссертация изложена на русском языке.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Хронический риносинусит – определение, признаки, критерии диагноза

Хронический риносинусит — это воспаление слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух различной этиологии, продолжительностью более 12 недель, которое сопровождается сохранением двух и более характерных для этой патологии жалоб, подтверждается результатами эндоскопического осмотра внутриносовых структур или данными инструментального исследования – компьютерной томографии (КТ) [20, 66, 94, 106]. Диагноз риносинусит может быть установлен на основании жалоб на заложенность носа или отделяемое из носа (в том числе, учитывается наличие постназального затека) в сочетании с одним из симптомов: снижением обоняния, дискомфортом в лицевой области, болевым синдромом в проекции околоносовых пазух [20, 94]. Эндоскопическим признаком риносинусита является слизисто-гнойное отделяемое или отек в среднем и верхнем носовых ходах [94]. В большинстве зарубежных стран к эндоскопическим признакам риносинусита относят наличие полипозных структур в носовых ходах [66, 94, 106]. Признаками риносинусита по данным КТ являются отек и утолщение слизистой оболочки в области остиомаеатального комплекса или околоносовых пазух [44, 94]. Исследователи отдельно выделяют острый рецидивирующий риносинусит, при котором частота обострений составляет 4 и более раз за 1 год [20, 94]. При остром рецидивирующем риносинусите имеются периоды вне жалоб, когда признаки воспалительных изменений слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух отсутствуют, в том числе, по данным эндоскопического исследования и КТ [20,94]. ХРС отличается от рецидивирующего острого риносинусита сохранением вышеупомянутых жалоб и патоморфологических изменений в период вне обострения [20, 44, 94].

Согласно Канадским клиническим рекомендациям 2013 года период сохранения жалоб дольше 8 недель может быть достаточным для установления диагноза ХРС, однако в большинстве стран, в том числе в Российской Федерации, минимально допустимым сроком является 12 недель [13, 20, 94, 106].

1.2. Распространенность хронического риносинусита

По данным различных источников литературы, распространенность хронического риносинусита в мире широко варьируется и составляет от 5 до 12% среди всего населения [94]. Встречаемость ХРС составляет в среднем 11% в странах Европы, 8% - в Китае, 12% - в Южной Корее и до 12% - в США [55, 62, 90, 133]. Встречаемость ХРС в РФ составляет около 16,4%, хотя этот показатель существенно отличается у разных исследователей [37, 46]. Большое влияние на точность этих данных оказывают многие факторы: преимущественное включение в статистику пациентов, лечение которых проводилось в условиях стационара (в том числе, хирургическое), широкая вариабельность показаний к хирургическому лечению, большое количество пациентов, получающих лечение в амбулаторном порядке и не попадающих в статистику [44]. Не меньшее влияние на общее количество пациентов, включенных в статистику с диагнозом ХРС, оказывает использование разных диагностических критериев в разных странах группами исследователей и врачей, с преимущественным упором на клиническую картину заболевания, без учета инструментальных методов исследования [46]. В связи с этим в Европейском согласительном документе по риносинуситу и назальному полипозу (EPOS 2005) было предложено проведение дополнительного эндоскопического исследования или КТ для уточнения диагноза ХРС [93]. Использование этих методов диагностики может в разы уменьшить количество пациентов с диагнозом ХРС, установленным только на основе характерных симптомов [44, 94, 132, 136, 140]. Причиной отсутствия повсеместного использования эндоскопической или инструментальной диагностики во многих

развитых странах и лечение на основании симптомов (с последующим включением пациента в статистику, как болеющего ХРС) может быть длительное наблюдение врача общей практики или участкового терапевта, не владеющего методиками эндоскопического исследования носа или не имеющего в своем распоряжении высокотехнологичных методов обследования [13, 46].

1.3. Использование опросников

Использование визуально-аналоговых шкал или других методов опроса может существенно облегчить работу врача в определении степени тяжести течения ХРС, а также оценке влияния этого заболевания на качество жизни пациента [13, 32, 40, 44]. Наиболее удобной для применения является визуальная аналоговая шкала (ВАШ), согласно которой тяжесть ХРС можно разделить на 3 категории: легкая (ВАШ 0-3 балла), средняя (ВАШ 4-7 баллов), тяжелая (ВАШ 7 -10 баллов) [12,40, 44]. Имеются данные, что при ВАШ >5 баллов ХРС оказывает значительное отрицательное влияние на качество жизни [44, 94]. Для подтверждения диагноза ХРС может использоваться шкала Lund-Mackay, учитывающая воспалительные изменения в околоносовых пазухах по результатам КТ [94].

Отечественными исследователями рекомендовано использование SNOT-22 (RSOM, Rhinosinusitis QoL survey) опросников, как наиболее достоверно отражающих влияние ХРС на жизнь пациента [32]. Группой отечественных исследователей сделан вывод о том, что универсального опросника, который бы учитывал все аспекты течения, тяжести, возможного влияния ХРС на качество жизни, в том числе после проведенного лечения, пока не разработано [32].

1.4. Влияние хронического риносинусита на качество жизни

Как и большинство хронических заболеваний ХРС способен оказывать значимое влияние на жизнь пациента. В EPOS 2020 дана оценка влияния воспалительного процесса в околоносовых пазухах на жизнь пациента – при ХРС она значимо выше, чем при остром риносинусите за счет продолжительного сохранения жалоб [95,151]. По данным ряда исследователей, ХРС влияет на жизнь человека сильнее таких проявлений ишемической болезни сердца как стенокардия и хроническая сердечная недостаточность [98]. В научной литературе отражено, что влияние ХРС на качество жизни сопоставимо с таким хроническим заболеванием как бронхиальная астма [91]. Проявлениями негативного влияния ХРС являются изменение эмоционального состояния, общего самочувствия, физической активности, что в большей степени заметно у пожилых людей и у пациентов с высшим образованием [51]. Обнаружено, что ХРС изменяет качество жизни женщин в большей степени, чем мужчин, вне зависимости от вида ХРС (с полипами или без), что нередко проявляется в виде увеличения частоты тревожных состояний [108]. ХРС и ассоциированные с этим заболеванием негативные проявления могут становиться причиной нейрокогнитивной дисфункции, приводить к снижению когнитивных возможностей и повышению эмоциональной лабильности, однако патогенетическая связь, лежащая в основе этих явлений, на современном этапе не ясна [77, 108, 114].

1.5. Классификация хронического риносинусита

В России в настоящее время представлено несколько классификаций ХРС, учитывающих такие критерии, как количество и локализация пораженных пазух, этиологические факторы, тяжесть заболевания, патогистологические изменения в слизистой оболочке [13, 34, 44]. В отечественной клинической практике наиболее часто используется классификация, построенная на фенотипических проявлениях

риносинусита. В соответствии с ней различают неспецифические (катаральный, гнойный, гнойно-полипозный, полипозный) и специфические (одонтогенный, на фоне опухолевых процессов, системных заболеваний и молчащего синуса) формы ХРС [13, 34, 44]. Эта классификация выигрывает перед другими благодаря удобству ежедневного применения практикующими специалистами в клинической практике с возможностью быстрого установления диагноза и назначением лечения. Существенным недостатком этой классификации является пренебрежение особенностями течения воспалительного процесса при неспецифических видах ХРС, что существенно снижает эффективность проводимого лечения [102, 102, 118, 150, 156]. В настоящее время во всем мире отсутствует общепризнанная классификация ХРС, которая бы учитывала совокупность фенотипических и патоморфологических особенностей воспалительного процесса в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух [13,44, 94].

В Европейском согласительном документе по риносинуситу и назальному полипозу представлено несколько классификаций [94]. Особый интерес представляет классификация, в которой учитываются иммунологические изменения в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух [94]. В этом документе предложено разделять ХРС на первичный и вторичный, в соответствии с причинами его развития, а в зависимости от количества и расположения пораженных пазух - на локальный (односторонний) и диффузный (двусторонний) [94].

При первичном типе ХРС нет связи с другими заболеваниями (ангиитами, иммунодефицитами) или другими экзогенными факторами, способными поддерживать хронический воспалительный процесс в слизистой оболочке околоносовых пазух. Изучение патогенеза ХРС и патоморфологических изменений в воспаленной слизистой оболочке позволило получить значительное количество информации о причинах, способствующих сохранению стойкого воспалительного процесса в околоносовых пазухах. На основании полученных данных, в зависимости от преобладающих маркеров воспаления, выделены эндотипы ХРС. В связи с количественной неоднородностью полученных данных, отдельно выделены

эндотипы ХРС 2-го типа, а все остальные отнесены в общую группу [82, 102, 103, 118, 156]. Введение в повседневную клиническую практику классификации ХРС, учитывающую эндотипы, способно положительно отразиться на эффективности лечения.

ХРС 2-го эндотипа в ряде случаев ассоциирован с аллергической природой воспалительных изменений [94, 129]. При этом первичном типе ХРС в тканях определяется избыточная активация Т-хелперов 2 типа, цитокинов IL-4, IL-5, IL-13, при гистологическом исследовании определяется увеличение количества эозинофилов и тучных клеток [118, 129]. Выделение этого эндотипа ХРС наиболее значимо для клинической практики, так как преобладание эозинофилов и тучных клеток в очаге воспаления позволяет влиять на их метаболизм посредством использования глюкокортикостероидов.

Долгое время считалось, что ХРС 2-го типа ассоциирован не только с эозинофильной инфильтрацией тканей, но и с образованием полипозной ткани. Было показано [65, 80, 155], что у пациентов развитых стран 80% случаев полипозного риносинусита сопровождается инфильтрацией тканей эозинофилами. Имеются работы, согласно которым в 49% случаев у пациентов с ХРС без полипов определяется повышение IL-4, IL-5, эозинофильного катионного белка, IgE, что также характерно для 2-го эндотипа [45, 129]. В дальнейшем, у 3% таких пациентов в течение 1 года отмечалось появление полипозной гиперплазии слизистой оболочки, что подтверждает данные других исследователей о том, что тканевая эозинофилия повышает вероятность образования полипозной ткани из слизистой оболочки полости носа [79].

Группа с ХРС не 2-го типа объединяет все остальные случаи первичных риносинуситов с сохранением жалоб дольше 12 недель. Общим признаком этой группы эндотипов является отсутствие увеличения количества эозинофилов в слизистой оболочке околоносовых пазух при патоморфологическом исследовании, что может влиять на подбор эффективной патогенетической терапии.

Для группы вторичных ХРС основным критерием является наличие одного или нескольких определенных этиологических факторов, обеспечивающих

сохранение воспалительных явлений в слизистой оболочке околоносовых пазух. В группе пациентов со вторичным ХРС устранение этих факторов является основной целью лечения и позволяет купировать воспалительный процесс. Вторичный ХРС [96] разделяют на локальный (чаще всего односторонний), связанный с местной патологией, например, одонтогенным воспалительным процессом или новообразованием, и диффузный (двусторонний). Причины, приводящие к развитию вторичного диффузного ХРС, подразделяются на три группы, не связанные с эндотипами: воспалительный (при полиангиитах), механический (связанный с ухудшением мукоцилиарного клиренса) и иммунный (вызванный иммунодефицитом) [96]. Изучение причин воспалительного процесса и патоморфологических изменений в слизистой оболочке при ХРС невозможно без понимания общих принципов работы иммунной системы.

1.6. Иммунитет и нейтрофилы

Иммунная система – это комплекс функционально взаимосвязанных органов, тканей, клеток, белковых комплексов и регуляторных компонентов, основной задачей которого является распознавание чужеродных структур с их последующей нейтрализацией и элиминацией, а также формированием невосприимчивости при повторном взаимодействии. Задачами иммунитета являются также контроль пролиферации клеток, процессов регенерации, элиминации, детоксикации опасных для организма макро- и молекул, взаимодействие с нормальной микробиотой [17].

В соответствии с функциональной активностью выделяют следующие уровни защиты: врожденный (неспецифический) и адаптивный (специфический) иммунитет. Врожденный иммунитет обеспечивается гранулоцитами, защитными белками и барьерным или мукозальным компонентом. Значимую роль в функционировании иммунной системы играют представители нормальной микробиоты, общее количество которой в организме человека может составлять до

1% массы тела. Считается, что микробиота принимает значимое участие в работе врожденного и адаптивного иммунитета организма хозяина, препятствуя колонизации поверхности слизистой оболочки и кожи патогенными микроорганизмами [17].

Врожденный иммунитет не является специфичным и действует быстро: при попадании чужеродного агента в организм запускается каскад воспалительных реакций, ограничивающих распространение патогена по внеклеточному пространству, после чего он уничтожается в течение нескольких часов [21].

Важным компонентом врожденного иммунитета являются гранулоциты, происходящие из общих стволовых клеток, расположенных в костном мозге. Гранулоциты представлены нейтрофилами, эозинофилами, базофилами, тучными клетками. Нейтрофилы выполняют защитную функцию преимущественно за счет фагоцитоза чужеродных агентов, тогда как эозинофилы, базофилы, тучные клетки выполняют защитные функции в основном за счет выделения токсического содержимого гранул во внеклеточное пространство. Нейтрофилы способны и на другие типы иммунных реакций.

У людей количество нейтрофилов, циркулирующих в крови, составляет порядка 50-70% от всех лейкоцитов. Продолжительность жизни нейтрофила в кровотоке составляет в среднем 5,4 дня с ежедневным обновлением части этих гранулоцитов. Нейтрофилы первыми мигрируют в область воспаления, уничтожая патогены в первые часы и дни заражения, формируя основной состав гнойного отделяемого. Имеются данные, что снижение количества нейтрофилов в кровотоке может быть причиной иммунодефицитных состояний у людей. Функциями нейтрофилов являются фагоцитоз (поглощение микроорганизмов или частиц), дегрануляция с высвобождением содержимого гранул, обладающих антимикробными свойствами и образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) [17, 111].

1.7. Нейтрофильные внеклеточные ловушки

В 1996 г. японскими исследователями был впервые описан механизм завершения жизненного цикла нейтрофилов, который принципиально отличался от известных на тот момент апоптоза и некроза [137]. Было замечено, что воздействие на нейтрофилы фторбол 12-миристан 13-ацетата приводило к выбросу во внеклеточное пространство деконденсированной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), а также других компонентов клетки, что сопровождалось гибелью нейтрофила. Но только в 2004 году была опубликована информация о лежащих в основе этого явления процессах, совокупность которых получила название НЕТоз [125, 137] (от англ. NET – Neutrophil Extracellular Traps), а также были изучены его противомикробные свойства. НЕТоз наблюдается у многих представителей животного мира: насекомых, рыб и млекопитающих [100]. В работе Хоэ и соавт. [143] был обнаружен выброс хроматина некоторыми клетками корней растений в ответ на патогенные грибы, что говорит о фундаментальной природе этого процесса [10].

Дальнейшее изучение процессов НЕТоза показало, что этот тип иммунного ответа не всегда заканчивается гибелью нейтрофилов. Были изучены механизмы и провоцирующие факторы, позволяющие нейтрофилам осуществлять выброс митохондриального или ядерного хроматина, не приводящие к их гибели и не влияющие на способность к фагоцитозу [9].

Позже похожие механизмы трансформации клеток с образованием внеклеточных ловушек были обнаружены и у других видов гранулоцитов (эозинофилы, базофилы). Кроме того, тучные клетки, моноциты, макрофаги, натуральные клетки-киллеры и лимфоциты также обладают способностью образовывать внеклеточные ловушки [10, 92]. Образование эозинофильных внеклеточных ловушек (ЭВЛ) было описано в 2008 году и охарактеризовано как ответная реакция эозинофилов на агрессию чужеродных микроорганизмов, а сам процесс был назван ЭТозом [59]. Тем не менее, согласно опубликованным данным,

большинство исследований, посвященных изучению внеклеточных ловушек, были проведены на модели НЕТоза.

После проведения многочисленных исследований было показано, что из всех видов внеклеточных ловушек бактерицидным эффектом обладают НВЛ и ЭВЛ. Внеклеточные ловушки других лейкоцитов в большей степени выполняют роль сигнальных молекул [9].

В соответствии с ранее сформулированными представлениями о том, что одним из важных условий активации НЕТоза является отсутствие возможности нейтрофила поглотить чужеродный агент, устарели. В настоящее время механизмы инициации НЕТоза и возможности НВЛ по элиминации патогенов изучены наилучшим образом [9, 105, 128]. Показано, что защитные свойства НВЛ могут преодолеваться способностью возбудителей инфекции использовать такие факторы патогенности как образование капсул или эндонуклеаз [9, 12, 58, 145].

Общепризнанной является точка зрения, что основная функция НВЛ заключается в обеспечении защиты организма от системного распространения патогенов из локального очага воспаления [76]. После изолирования в организме источника инфекции патоген уничтожается всеми доступными иммунной системе средствами [10]. Когда поставленная задача выполнена, НВЛ разрушаются ферментом ДНКазой I, после чего остатки хроматина уничтожаются макрофагами [130]. Достоверно известно, что НВЛ принимают активное участие в воспалительном ответе при инфекционных и неинфекционных заболеваниях [9, 18, 164].

1.8. Строение нейтрофильных внеклеточных ловушек

Механизм НЕТоза, в результате которого формируются НВЛ, не похож на другие виды иммунного ответа. Основа структуры НВЛ формируется из нитевидных сетей хроматина диаметром 15-17 нм, которые сохраняют нуклеосомную структуру – нить ДНК, закрученную вокруг сложных комплексов

белков [8, 29, 122, 125]. Более 70% белков, представленных в нейтрофильных внеклеточных ловушках, составляют гистоны – белки, обеспечивающие сохранение трехмерной структуры укладки ДНК. Согласно некоторым исследованиям, внеклеточно расположенные гистоны могут способствовать активации процессов НЕТоза [73, 96]. Глобулярные структуры, являющиеся элементами НВЛ, и представляющие ферменты первичных и вторичных гранул нейтрофилов, обладают бактерицидными свойствами. Это обеспечивается как за счет агрессивного содержимого белков гранул, так и за счет цитотоксичного эффекта самих гистонов [64, 146]. Такими белками являются нейтрофильная эластаза (НЭ), миелопероксидаза (МПО), кальпротектин и альфа-дефензины, которые в процессе НЕТоза в адгезированном к ДНК виде выходят во внеклеточное пространство [105].

При образовании НВЛ размеры хроматиновых сетей могут в 10-15 раз превышать первоначальный размер нейтрофила, что повышает эффективность внеклеточных механизмов ликвидации возбудителей [8, 56, 122].

1.9. Роль внеклеточных ловушек в воспалительном процессе при хроническом риносинусите

НЕТоз является значимой частью иммунного ответа и сопровождает воспалительный процесс практически при всех видах ХРС [5, 27, 48, 124, 164]. По данным ряда исследователей, полученным при анализе гистологического материала, НВЛ встречаются в 67% случаев у пациентов с ХРС без полипов и в 64% случаев у пациентов с полипозной формой риносинусита [48]. Также считается, что по пути ЭТоза идет 13,5% эозинофилов, находящихся в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух [89].

НВЛ и нейтрофилы в процессе НЕТоза (нетотические нейтрофилы) способствуют миграции гранулоцитов из кровеносного русла в ткани и снижают

проницаемость эпителия, что помогает изолировать очаг воспаления от системного распространения патогена [124].

У пациентов с полипозным ХРС нейтрофилы могут, напротив, снижать защитные свойства эпителия в связи с повышением уровня онкостатина М, увеличивающего проницаемость эпителия [53, 124, 126, 160]. Сопутствующая активация НЕТоза может как противостоять бактериальной инвазии [155], так и способствовать избыточному воспалительному процессу с разрушением собственных тканей [124].

Другими исследователями при изучении гистологического материала был сделан вывод, что нейтрофильная инфильтрация полипозной ткани с высокой концентрацией НВЛ сопровождается высоким риском тяжелых, устойчивых к лечению форм полипозного ХРС не 2-го типа. Аналогичные данные получены относительно эозинофильной инфильтрации и ЭВЛ, однако прямой или противоположной взаимосвязи между НЕТозом или ЭТозом обнаружено не было. Изучение влияния НЕТоза или ЭТоза на течение ХРС без полипов не проводилось [85, 164].

Имеются данные, что большое количество НВЛ может способствовать избыточной активации базальных эпителиальных клеток при полипозной неэозинофильной форме ХРС (не 2-го типа), усугубляя тяжесть течения болезни. Применение ДНКаз на животной модели полипозного ХРС, которые разрушали НВЛ, предотвращало избыточную активацию стволовых эпителиальных клеток и гиперплазию слизистой оболочки [126].

Для того, чтобы оценить степень влияния внеклеточных ловушек на течение ХРС, нужно понимать механизмы НЕТоза и ЭТоза у здоровых пациентов. В литературе практически нет данных о частоте и распространенности НЕТоза в слизистой оболочке у пациентов без ХРС, хотя и известно, что число НВЛ в секрете пациентов группы контроля значительно ниже, чем у пациентов с ХРС [124]. По данным других работ, образование ЭВЛ практически не наблюдается в тканях здоровых людей [89].

В настоящий момент во многих исследовательских работах встречается предположение, что причиной сохранения воспалительных процессов, ассоциированных с НЕТозом, является нарушение баланса между образованием и разрушением остатков внеклеточных ловушек после выполнения ими основной функции [9, 30, 105, 123, 164].

1.10. Распределение внеклеточных ловушек в тканях при хроническом риносинусите

Распределение внеклеточных ловушек в тканях при ХРС определяется характером воспалительного процесса, а также наличием или отсутствием полипозно-измененной слизистой оболочки. Для полипозного риносинусита характерно распределение НВЛ в субэпителиальном пространстве, а их число зависит от наличия бактериальных биопленок [48, 112]. Для ХРС без полипов НВЛ локализуются значительно глубже эпителия, преимущественно, в строме [48]. ЭВЛ при полипозном риносинусите обнаруживаются в апикальной части субэпителиального слоя, что отличается от распределения НВЛ. В строме же ЭВЛ практически не обнаруживаются, а эозинофилы преимущественно интактны [89].

1.11. Влияние внеклеточных ловушек на отделяемое при хроническом риносинусите

При обострении ХРС обнаруживается нарастание концентрации внеклеточной ДНК и НВЛ в тканях и секрете по сравнению с периодом вне обострения, а также группой здоровых пациентов [48, 112, 124]. Образование внеклеточных ловушек сопровождается выходом во внеклеточное пространство значительного количества цитотоксичного материала (гистоны, ферменты), в том числе нитей ДНК, не подвергающихся полной деградации [125, 137]. Это оказывает значимое влияние на характер и свойства секрета, образование которого сопровождает течение

воспалительного процесса на слизистой оболочке ЛОР-органов, контактирующих с этим отделяемым [87, 88].

Преобладающий вид гранулоцитов в очаге воспаления определяет количество и соотношение разных видов внеклеточных ловушек. При большом количестве нейтрофилов в очаге инфекции обнаруживается гнойное отделяемое, тогда как эозинофильная инфильтрация сопровождается образованием вязкого слизистого секрета - муцина [84, 97]. Именно соотношение процессов НЕТоза и ЭТоза определяют степень вязкости секрета [88]. Характеристики муцина определяются низкой пластичностью хроматина внеклеточных ловушек после разрушения эозинофилов, что обусловлено более стабильными мембранами гранул, попадающих во внеклеточное пространство [131].

Нарушение баланса между образованием и разрушением НВЛ может приводить к повреждению собственных тканей организма за счет высокой активности ферментов гранул, оказывающихся во внеклеточном пространстве в процессе НЕТоза. Высокая концентрация ЭВЛ обладает меньшей способностью к повреждению собственных тканей по сравнению с НВЛ. Пониженная вязкость муцина, состоящего преимущественно из ЭВЛ, способствует задержке эвакуации отделяемого, что может способствовать более продолжительному воздействию ферментов на ткани и сопровождаться вторичным повреждением эпителия [87, 89, 94].

На вязкость отделяемого также оказывает влияние повышенная по сравнению с другими гранулоцитами активность протеолитических ферментов нейтрофилов. Такая активность протеолитических ферментов нейтрофилов (в частности – нейтрофильной эластазы) понижает стабильность внеклеточного хроматина и увеличивает его пластичность, что связано с разрушением гистонов [87, 131]. Значительное влияние на процессы НЕТоза и характер отделяемого при ХРС оказывает состав микробиоты, заселяющей поверхность слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух.

1.12. Микробиота околоносовых пазух

До появления в арсенале исследователей метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) наиболее популярным методом изучения микробиоты организма являлось проведение посева биоматериала с поверхности слизистой оболочки для бактериологического исследования. Низкая точность этого метода оказывала существенное влияние на представление о том, насколько значительно заселена слизистая оболочка полости носа и околоносовых пазух в норме.

Еще около 15 лет назад большинство исследователей считали, что у 75% здоровых пациентов пазухи стерильны [69, 94], и лишь в 25% случаев в пазухах могут встречаться те или иные представители микроорганизмов. Предполагалось, что активное увеличение популяции бактерий является одним из необходимых условий для развития ХРС и других воспалительных процессов [69]. Развитие точных, антигензависимых методов анализа представителей микробного мира, а именно – метода ПЦР, существенно повысило точность проводимых исследований. Стало известно, что слизистая оболочка околоносовых пазух повсеместно заселена представителями микробиоты [95].

Накоплено значительное количество информации о колонизации слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух различными видами микроорганизмов на фоне и вне патологического процесса [153]. Наиболее распространенными представителями нормальной микробиоты этой локализации являются бактерии родов *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, которые осуществляют активную колонизацию этого биотопа еще в раннем детстве [153]. Считается, что к 3-м годам достигается стойкое состояние микробиома околоносовых пазух [153].

Сохранение представителей нормального микробиома на слизистой оболочке играет большое значение для профилактики развития патологических воспалительных явлений. Известно, что представители рода *Propionibacterium* имеют способность вырабатывать вещества, дающие им конкурентные преимущества за счет антибактериальных и противогрибковых эффектов [101]. Как

показывают исследования повсеместная колонизация слизистой оболочки представителями нормальной микробиоты у здоровых людей не приводит к активным воспалительным изменениям. Соответственно, вне воспалительного процесса в слизистой оболочке полости носа не отмечается инфильтрации гранулоцитами и активного образования внеклеточных ловушек [134].

Представители мира бактерий в организме человека обитают в основном в форме биопленок, что значительно влияет на их взаимодействие с макроорганизмом при локальном воспалительном процессе [12, 134, 157, 160]. Бактериальные биопленки представлены сложными комплексами и организованными сообществами бактерий, которые тесно связаны с самопроизведенным матриксом [83]. Бактериальные биопленки могут иметь в составе не только бактерии, но и грибы. Свойства биопленок определяются преобладающими микроорганизмами, входящими в их состав [12, 83, 116, 157].

В структуре биопленок суммарная клеточная масса бактерий может варьироваться от 5 до 35% [23]. Остальной объем биопленок представлен сложным внеклеточным матриксом, имеющим неоднородный состав [23]. Имеются данные о наличии связи между представителями микробиома и интенсивностью НЕТоза, а также бактерицидным эффектом НВЛ в условиях воспалительного процесса [12]. Это связано с особенностями метаболизма бактерий и их способностью образовывать и влиять на состав основной массы биопленок [12, 157].

Исследователями активно изучается метаболизм наиболее распространенных бактерий и их взаимодействие с НВЛ, в том числе, свойства образуемых ими биопленок [12, 116]. Известно, что бактерии рода *Pseudomonas aeruginosa* используют в своей жизнедеятельности внеклеточные ловушки как один из основных субстратов для образования внеклеточного матрикса биопленок [12, 157]. Имеются данные, что грибы *Candida albicans* обладают способностью подавлять образование НВЛ, что может давать им конкурентные преимущества перед другими представителями микробиома во время колонизации слизистой оболочки [12].

Таким образом, микробиом может существенно влиять на метаболизм НВЛ, активно используя внеклеточные ловушки для своих нужд. Помимо этого,

избыточное количество НВЛ может способствовать ухудшению дренирования естественных полостей в ЛОР-органах, что описано у детей при хроническом среднем отите [120].

Исследователями выделены представители микробиома, наиболее часто обнаруживаемые на слизистых оболочках полости носа и околоносовых пазух у пациентов с ХРС. К ним относятся золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*), различные стрептококки (*Streptococcus saprophyticus*), коринебактерии (*Corynebacterium saprophyticus*), гемофильная палочка (*Haemophilus influenzae*), эпидермальный стрептококк (*Staphylococcus epidermidis*), пропионибактерии (*Propionibacterium acnes*), кишечная палочка (*Escherichia coli*), пептострептококки (*Peptostreptococcus saprophyticus*), клебсиеллы (*Klebsiella saprophyticus*) [147, 157]. Вышеперечисленные представители мира бактерий могут сочетаться с другими микроорганизмами в разных вариациях [147].

Интересными являются результаты работ некоторых исследователей, согласно которым у пациентов с ХРС качественный состав микробиома практически не подвергается изменениям во время ремиссии и обострения, а слизистые оболочки заселены анаэробами или ассоциациями анаэробов и аэробов [57].

1.13. Связь микробиоты слизистых оболочек и нейтрофильных внеклеточных ловушек

Взаимодействие некоторых широко распространенных представителей микробиома и НВЛ хорошо изучено исследователями. Особенно много внимания уделено изучению такому виду из рода стафилококков, как *S. aureus*. Этот представитель условно-патогенной микробиоты встречается как на слизистых оболочках и коже у пациентов с воспалительными процессами, так и у здоровой группы пациентов [48]. Не являются исключением и пациенты с ХРС, у которых *S. aureus* встречается достаточно часто [48, 147].

Возможно, такая распространенность обусловлена широкими адаптивными возможностями рода стафилококков. Представители вида *S. aureus* в небольших количествах обладают способностью провоцировать организм к активному синтезу интерлейкина-10, обладающего выраженными противовоспалительными свойствами. Однако, при значительном нарастании численности популяции *S. aureus* происходит угнетение синтеза интерлейкина-10, что может приводить к усилению воспалительного ответа [154].

Представители вида *S. aureus*, кроме возможности использовать НВЛ в качестве ресурса для образования основной массы биопленок [12], могут инициировать локальное формирование ЭВЛ в области поврежденного эпителия слизистых оболочек околоносовых пазух.

Исследователи обнаружили, что при ХРС 2-го типа представители других видов, *Str. epidermidis* и *P. aeruginosa*, ведут себя иначе в воспаленных тканях и не используют НВЛ как источник для образования своих биопленок [61]. Увеличение популяции этих бактерий сопровождается увеличением ИЛ-5 [61].

На сегодняшний день взаимодействие НВЛ и других представителей условно-патогенной микробиоты изучено недостаточно и требует дальнейших исследований.

1.14. Взаимодействие нейтрофильных внеклеточных ловушек и вирусов

Повсеместная распространенность и многообразие вирусов, поражающих верхние отделы респираторного тракта, в том числе, слизистые оболочки полости носа, может напрямую оказывать влияние на особенности течения воспалительного процесса [104, 159]. Было показано, что вирусы обладают способностью индуцировать миграцию нейтрофилов в слизистую оболочку и запускать НЕТоз [104]. Повышенное образование внеклеточных ловушек при воспалении, индуцированном вирусами, может сопровождаться значительным повреждением слизистой оболочки [104].

В литературе имеются данные о высоком уровне персистенции вирусов в слизистой оболочке полости носа при ХРС [141]. Также известно и об отсутствии значимой разницы в уровне вирусной нагрузки в слизистой оболочке у пациентов с различными фенотипами ХРС и у здоровых пациентов [115, 141].

Некоторые вирусы способны уходить от реакции иммунитета. Представители семейства *Herpesvirus* обладают способностью инактивировать защитные факторы иммунной системы организма, в том числе, внеклеточные ловушки [144]. Это свойство обусловлено возможностью этой группой вирусов активировать ДНКазу – фермент, разрушающий НВЛ за счет деградации хроматина, который является остовом внеклеточных ловушек [144].

1.15. Возможности клинического анализа внеклеточных ловушек при хроническом риносинусите

Попытки изучения влияния НВЛ на течение ХРС предпринимаются исследователями всего мира в течение нескольких лет [48, 85, 105, 123, 124, 160].

Наиболее надежным методом анализа активности НЕТоза в тканях является изучение гистологического материала, полученного во время хирургической ревизии полости носа и внутриносовых структур [48, 54, 85, 87, 88, 89, 124]. Полученные при этом данные обладают высокой точностью и позволяют оценить не только факт присутствия НВЛ и нейтрофилов в слизистой оболочке и пораженных тканях, но и позволяют судить о количестве, локализации и их концентрации [48, 85, 89]. Тем не менее, в клинической практике возможность получения таких данных обязательно сопряжена с инвазивным вмешательством и требует соблюдения определенных условий, при которых возможен забор биопсии воспаленных тканей для гистологического исследования.

Гораздо более доступным для применения в клинической практике является анализ секрета, полученного путем аспирации из полости носа или при пункции пазухи, образование которого сопровождает течение большинства видов ХРС.

Работы, в которых бы исследователи оценивали количество и динамику образования внеклеточных ловушек по количеству и качеству отделяемого в настоящий момент представлено не так много [88,124]. Кроме того, не при всех видах воспалительного процесса в полости носа и околоносовых пазух (а также у контрольной группы) имеется возможность получить достаточное для анализа количество материала. В связи с этим для изучения процессов НЕТоза могут быть использованы назальные смывы [95, 124].

1.16. Возможности терапевтического влияния на нейтрофильные внеклеточные ловушки

Исследователями проводится активный поиск лекарственных средств, способных влиять непосредственно на процессы НЕТоза. Представлены данные о влиянии на НЕТоз ДНКаз, ингибиторов нейтрофильной эластазы, CXCR2-антагонистов, ингибиторов образования активных форм кислорода (АФК), колхицина [68, 105, 161].

ДНКазы I – это фермент, обеспечивающий разрушение двухцепочечной ДНК, являющейся основой НВЛ в очаге воспаления. Большое количество внеклеточных ловушек повышает вязкость отделяемого, что способствует повреждению тканей. Использование ДНКаз позволяет разрушать нити ДНК, что способствует разжижению патологического отделяемого и уменьшению времени влияния агрессивных ферментов гранул на ткани [107, 130]. Препараты этой группы нашли преимущественное применение при лечении патологии нижних отделов дыхательных путей: при муковисцидозе и обострениях астмы (за счет муколитического эффекта), остром респираторном дистресс синдроме [81,123, 130, 161].

Применение ингибиторов протеаз направлено на снижение активности нейтрофильной эластазы и миелопероксидазы как основных ферментов, участвующих в образовании НВЛ. Альфа1(α -1)-протеиназы используются для блокирования эластазы, преимущественно при лечении и профилактике

прогрессирования эмфиземы легких, бронхоэктазов [110]. Ингибиторы МПО в настоящий момент разрабатываются и изучаются [60].

Рецепторы CXCR2 регулируют миграцию нейтрофилов и индуцируют НЕТоз через IL-8. Клинические испытания AZD5069 – антагониста рецепторов CXCR2 не показали существенных преимуществ и положительной клинической динамики [71, 72, 75, 162].

Активные формы кислорода являются одним из главных медиаторов НЕТоза. За счет поглощения АФК N-ацетилцистеин обеспечивает антиоксидантную активность и подавляющее влияние на образование НВЛ [163]. Применение N-ацетилцистеина уменьшает активность воспалительных цитокинов и образование АФК, снижая интенсивность НЕТоза и улучшая функциональные возможности легких при астме [113, 138].

Получены данные на экспериментальной модели о способности колхицина подавлять процессы образования НВЛ у пациентов с неинфекционной воспалительной патологией сердечно-сосудистой системы, что давало положительный клинический эффект [68].

Снижение активности процессов НЕТоза позволяло улучшить процессы восстановления поврежденных тканей [68]. Отечественными исследователями была изучена способность Азоксимера бромида нейтрализовать АФК, ограничивающая интенсивность НЕТоза [3].

1.17. Азоксимера бромид: история создания, возможности применения

Азоксимера бромид – отечественный лекарственный препарат, созданный в Институте иммунологии РФ коллективом ученых в 1983 году, и активно применяющийся в клинической практике более 25 лет. В Российской Федерации этот препарат выпускается под названием Полиоксидоний. По химической структуре Азоксимера бромид относится к водорастворимым производным гетероцепных алифатических полиаминов, являясь сополимером N-окиси 1,4 –

этиленпиперазина и (N-карбоксиэтил) – 1,4-этиленпиперазиния бромид, и обладает иммуномодулирующим, дезинтоксикационным, антиоксидантным и мембранопротекторным действием [35].

Азоксимера бромид оказывает непрямо токсическое действие на возбудителей инфекционных процессов, функционально повышая общую антиинфекционную устойчивость организма. Этот эффект обеспечивается благодаря возможности влиять на разные звенья фагоцитарной системы, например на усиление миграции фагоцитов в очаг воспаления, удаление чужеродных частиц из кровотока, повышение бактерицидной эффективности лейкоцитов. Такой набор свойств у Азоксимера бромида позволяет усилить защиту организма от широкого спектра патогенов [3, 35].

Бактерицидные свойства фагоцитов частично обеспечиваются кислород-зависимыми и кислород-независимыми механизмами. При кислород-зависимых формах взаимодействия патогена с фагоцитом образуются АФК и азота, обладающие неспецифической бактерицидной активностью и высокой степенью агрессии. У Азоксимера бромида обнаружена способность к подавлению образования активированными нейтрофилами НВЛ. Ограничение образования внеклеточных форм АФК (в том числе, супероксидного анион-радикала и пероксида водорода) и избыточного количества НВЛ позволяет снизить цитотоксическое влияние воспалительного процесса без потери эффективности фагоцитоза [3, 4, 35, 149].

Изучены особенности взаимодействия Азоксимера бромида с клетками моноцитарно-макрофагальной системы и лимфоцитами, что обусловлено его стимулирующим влиянием на синтез цитокинов: IL-1b, IL-6, TNF- α . Доказано, что Азоксимера бромид повышает функциональную активность факторов естественной резистентности (IL-1 β , TNF- α), повышающих фагоцитарную активность, только при условии исходного снижения среднего уровня показателей. Влияние на выработку этих цитокинов у людей с нормальными показателями не наблюдается, что исключает возможность гиперактивации иммунной системы под действием препарата и является важным условием безопасности его применения.

Повышение образования противовоспалительного IL-6 является проявлением иммуномодулирующих качеств Азоксимера бромида [2, 35, 38].

У основных клеток мишеней Азоксимера бромида (нейтрофилов, макрофагов, НК-клеток) препарат локализуется внутриклеточно, тогда как внутри лимфоцитов этот лекарственный препарат не обнаруживается [35]. Взаимодействие с лимфоцитами осуществляется преимущественно за счет Т-лимфоцитов, активация которых приводит к образованию цитокинов. Проявлением этих свойств является более эффективная работа гуморальной системы в виде кратного увеличения антител (в 5-10 раз) при совместном поступлении в организм Азоксимера бромида и небольшого количества чужеродных агентов (антигенов), что было использовано при создании одной из отечественных вакцин от вируса гриппа (Гриппол) [2, 35, 38].

1.18. Современные подходы к лечению хронического риносинусита

В связи с большим разнообразием причин развития ХРС, еще не разработан лекарственный препарат или метод лечения, который позволял бы добиться полного выздоровления или стойкой ремиссии при всех случаях этого заболевания, что определяет необходимость применения индивидуального подхода к каждому пациенту [44, 94]. Эффективность лечения вторичных форм ХРС напрямую определяется способностью влиять на первичную причину заболевания, включая хирургическое удаление основного этиологического фактора (например, при одонтогенных формах синусита) [4].

В Российской Федерации основными лекарственными средствами с доказанной эффективностью при лечении ХРС вне обострения являются ирригационные мероприятия изотоническими солевыми растворами и интраназальные глюкокортикостероиды (ИнГКС). Показания к назначению остальных лекарственных средств определяются индивидуально в каждом конкретном случае.

Системная антибактериальная терапия короткими курсами (до 14 дней) используется преимущественно для купирования обострений ХРС. В качестве дополнительного лечения назначаются деконгестанты, мукоактивные и иммуностропные лекарственные средства, антигистаминные и антилейкотриеновые препараты (при наличии аллергического фона) [6, 49, 94]. Известно, что назначение системной антибактериальной терапии не позволяет подавить патологическое течение воспалительного процесса в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух [109].

Упомянутый в некоторых работах вариант терапии ХРС длительным курсом (3-6 месяцев) антибактериальных препаратов, в частности макролидов, обладающих при определенных условиях иммуномодулирующим эффектом, не получил повсеместного применения [44, 94] и официально в нашей стране не рекомендован. Похожие данные относительно назначения длительных курсов (дольше 4 недель) макролидов имеются и в EPOS 2020, где сопоставлены результаты многих исследовательских работ [94]. В некоторых работах определено снижение маркеров воспаления (IL-8, IgE) при отсутствии или незначительных изменениях клинических проявлений ХРС после курса лечения, что говорит в пользу необходимости дальнейшего изучения этого метода лечения [47, 94]. Замечено, что длительный прием макролидов, помимо основного антибактериального эффекта, может сопровождаться повышением интенсивности НЕТоза [44, 124]. Связь между использованием других антибактериальных препаратов с процессами НЕТоза не изучена [124].

При инвазивных грибковых поражениях показано назначение противогрибковых препаратов продолжительными курсами (4-12 недель). При неинвазивных грибковых процессах проведение хирургического лечения с удалением патологических масс позволяет добиться выздоровления [13, 94].

Назначение ИнГКС продолжительными курсами (от 3 месяцев) при ХРС отвечает всем требованиям доказательной медицины и направлено на купирование локальных воспалительных изменений в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух. ИнГКС безопасны для пациентов за счет минимальной

биодоступности, при этом оказывают положительное влияние на качество жизни за счет снижения проявлений симптомов, с наибольшей эффективностью при первичном ХРС 2-го типа. При полипозных формах ХРС назначение ИнГКС позволяет добиться уменьшения размеров полипов и снижает вероятность рецидива полипоза после функциональных эндоскопических эндоназальных вмешательств [13, 94]. Использование глюкокортикостероидов системно (на примере дексаметазона) *in vivo* по данным литературы не влияет на количество НВЛ, однако имеются сведения о снижении количества НВЛ на фоне применения данного препарата в условиях *in vitro* [31, 139]. Дексаметазон (как препарат из группы ГКС) также может снижать апоптоз нейтрофилов при сохранении нейтрофильной инфильтрации и уровня НЕТоза в слизистой оболочке дыхательных путей, что продемонстрировано в эксперименте у лошадей с бронхиальной астмой в условиях *in vivo* [120].

Для купирования обострения ХРС может использоваться пункция и зондирование околоносовых пазух. Показания к использованию этого лечебно-диагностического метода на практике в большей степени представлены болевым синдромом или отсутствием положительного эффекта от ранее назначенного лечения. Для проведения пункции наиболее удобна и технически доступна верхнечелюстная пазуха [11, 34, 44]. Пункция пазух остается одним из актуальных способов санирования околоносовых пазух при обострениях риносинусита [11].

В настоящее время интенсивно развиваются современные подходы к лечению первичных форм риносинусита, которые направлены на непосредственное устранение факторов, принимающих активное участие в иммунных механизмах организма, обеспечивающих поддержание воспалительного процесса в слизистой оболочке околоносовых пазух [94]. Проводится все больше исследований, изучающих использование препаратов, обладающих способностью блокировать воспаление на самых разных этапах, основываясь на разрыве этиопатогенетических цепочек. Одними из наиболее показательных и прогрессивных на сегодняшний день являются препараты биологической терапии. К этим лекарствам относят моноклональные антитела к IgE (омализумаб), IL-5

(меполизумаб, реслизумаб, бенрализумаб), IL-4 и IL-13 (дупилумаб) [94]. Применение моноклональной терапии обеспечивает исключение провоспалительных интерлейкинов из патогенеза воспаления.

Современные лекарственные средства, в том числе, обладающие иммуотропным эффектом, могут повысить шансы достижения положительных результатов при лечении ХРС. Дальнейшее изучение патогенетических основ воспалительного процесса при ХРС может существенно изменить подход к лечению и повысить его эффективность.

В клинической практике нашли применение 3 основные группы иммуномодуляторов: экзогенные, эндогенные и синтетические. К экзогенной группе относятся препараты микробного (бактериальные лизаты) или растительного происхождения (экстракт эхинацеи, лекарства на основе других трав), нуклеиновые кислоты и другие. К группе эндогенного происхождения относятся цитокины (интерфероны, интерлейкины, колониестимулирующий фактор) и иммунорегуляторные пептиды (препараты тимического и костномозгового происхождения). Азоксимера бромид принадлежит к группе химически чистых (синтетических) иммуномодуляторов [14, 16, 38, 39].

Внеклеточные ловушки, которые являются важным компонентом воспалительного процесса, могут оказаться важной мишенью при лечении больных с ХРС [105]. Значительное количество информации о влиянии Азоксимера бромида на интенсивность НЕТоза при воспалительных процессах ЛОР-органов, делает его применение при ХРС патогенетически обоснованным и безопасным [3, 14].

1.19. Хирургическое вмешательство при хроническом риносинусите

В среднем 13-20% пациентов с ХРС после проведенного консервативного лечения подвергаются хирургическому вмешательству в связи с сохранением жалоб [55].

В настоящее время для лечения ХРС используются: функциональная эндоскопическая хирургия носа (FESS), минимально инвазивная хирургия (MIST), радикальные хирургические вмешательства, балонная синусопластика [19]. Современные принципы, обеспечивающие эффективность вмешательства, обладают минимальной инвазивностью и направлены на санацию очага воспаления с последующим восстановлением аэрации и дренирования пазухи [15, 19, 44, 94].

Показанием к проведению хирургического лечения могут быть индивидуальные особенности строения полости носа и околоносовых структур, создающие предпосылки для развития и рецидива ХРС за счет наличия препятствий к аэрации или блокаде выводных путей пазух. Комплексный подход в виде сочетания консервативного и хирургического методов лечения является в таких случаях наиболее правильным [6, 34, 44]. Проведение хирургической санации синусов является эффективным методом лечения заболевания и позволяет существенно повлиять на клинические проявления ХРС. Но даже комплексный подход к лечению ХРС сопровождается рецидивом клинических проявлений заболевания в 31% случаев в послеоперационном периоде [158]. Распространенность осложнений в послеоперационном периоде варьирует от 1,2 до 15,3% с возникновением показаний к выполнению повторного хирургического вмешательства в 7% случаев [158].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Общая характеристика обследованных пациентов

В ходе научно-исследовательской работы, проведенной на базе кафедры болезней уха, горла и носа ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) МЗ РФ за период с 2020 по 2023 год обследовано 137 человек, в числе которых: 82 пациента с хроническим риносинуситом (диагнозы соответствовали международной классификации болезней МКБ-10 J32.0-J32.9), 15 пациентов без сопутствующих воспалительных процессов в полости носа и околоносовых пазухах, преимущественно с искривлением перегородки носа и показаниями к хирургическому лечению (основной диагноз соответствовал международной классификации болезней МКБ J34.2). В качестве группы контроля были приглашены здоровые добровольцы в количестве 40 человек без острой и хронической ЛОР-патологии.

При установлении диагноза риносинусит учитывались жалобы пациентов, данные анамнеза заболевания, объективного осмотра пациентов и КТ-диагностики.

2.1.1. Критерии включения

Для пациентов с ХРС:

а) Наличие диагноза хронический риносинусит, в соответствии с критериями установления диагноза;

б) Частота обострений не менее 3-4 раз в год, купирование которых проводилось с использованием комплексной антибактериальной, мукоактивной, ирригационной, топической глюкокортикостероидной терапии.

Для пациентов с показаниями к хирургическому лечению без ХРС:

а) Искривление перегородки носа;

б) Наличие показаний для хирургической коррекции внутриносовых структур по медицинским показаниям.

В группу здоровых добровольцев были включены пациенты без жалоб, острой и хронической воспалительной или функциональной патологии со стороны ЛОР-органов.

2.1.2. Критерии исключения

Для пациентов с ХРС:

а) Наличие обострения ХРС или другой острой воспалительной патологии верхних дыхательных путей в течение 1 месяца перед появлением жалоб;

б) Наличие аллергии;

в) Наличие назальных полипов;

г) Наличие грибковых тел в околоносовых пазухах;

д) Наличие известных пациенту хронических воспалительных (хронический бронхит, хронический пиелонефрит и др.), в том числе аутоиммунных заболеваний (системная красная волчанка, болезнь Крона и др.), заболеваний эндокринной системы (сахарный диабет);

е) Лечение ХРС курсом ИнГКС, мукоактивных препаратов, системной антибактериальной терапией в течение 1 месяца до включения в исследование;

ж) Регулярное использование сосудосуживающих капель;

з) Возраст младше 18 лет;

к) Беременность.

Для пациентов с показаниями к хирургическому лечению без ХРС и здоровых добровольцев:

а) Острая воспалительная патология верхних дыхательных путей в течение 1 месяца до включения в исследование;

б) Наличие аллергического анамнеза;

в) Наличие признаков воспалительного процесса в полости носа или околоносовых пазухах;

г) Наличие известных пациенту хронических воспалительных (хронический бронхит, хронический пиелонефрит и др.), в том числе аутоиммунных заболеваний (системная красная волчанка, болезнь Крона и др.), заболеваний эндокринной системы (сахарный диабет);

д) Возраст младше 18 лет;

е) Беременность.

2.1.3. Распределение пациентов по полу и возрасту

В исследовании приняло участие 137 человек, среди которых 66 мужчин (48%) и 71 женщина (52%) в возрасте от 19 до 64 лет. Средний возраст всех пациентов составил $36,4 \pm 10,3$ года.

2.1.4. Распределение пациентов по клиническим группам

Всем пациентам с ХРС (n=82) было показано и предложено хирургическое лечение - функциональное эндоскопическое вмешательство на околоносовых пазухах. Согласились на данное лечение 61 пациент с ХРС, 21 пациент отказался от хирургического вмешательства, в связи с чем в качестве альтернативы им было предложено лечение Азоксимера бромидом (Полиоксидоний®). Объем хирургического вмешательства на околоносовых пазухах пациентов не подвергался оценке и определялся медицинскими показаниями.

Группа пациентов с ХРС, отказавшихся от хирургического лечения (n=21) и один пациент (n=1) из согласившихся на хирургическое вмешательство принимали Азоксимера бромид с забором материала для исследования до начала лечения и после завершения курса приема препарата. Азоксимера бромид применялся интраназально (по 4-5 капель 3 раза в день курсом 10 дней) в виде разведенного

лиофилизата, включающего 6 мг во флаконе объемом 1 мл (15 человек), и раствора, включающего 6 мг/мл вещества (7 человек). Суточная дозировка Азоксимера бромида, которую получали все пациенты из этой группы, не отличалась. Причиной замены лиофилизата на раствор стало изменение формы выпуска препарата производителем, при этом показания, дозировка, кратность и продолжительность применения препарата остались прежними. Терапию Азоксимера бромидом в нашем исследовании получили 22 человека.

Назначение Азоксимера бромида в предоперационном периоде пациенту с ХРС с последующим хирургическим лечением (n=1) было сделано с целью изучения распределения и количества НВЛ в слизистой оболочке пациента с ХРС после иммунокорректирующей терапии. Взятие гистологического материала до и после лечения (в динамике) не проводилось по этическим соображениям.

2.2. Методы обследования пациентов

У всех пациентов с ХРС и у здоровых добровольцев проводились осмотр, забор и анализ полученного материала: назальных смывов и венозной крови с последующим определением количества НВЛ.

У пациентов с ХРС из подгруппы с хирургическим лечением и у пациентов из группы с хирургическим лечением без ХРС осуществлялся забор гистологического материала интраоперационно однократно с целью определения количества НВЛ в слизистой оболочке. Интраоперационно однократно забор гистологического анализа был осуществлен также у пациента, получившего курс лечения Азоксимера бромидом в предоперационном периоде, с целью анализа количества НВЛ в биоптате слизистой оболочки.

2.2.1 Оториноларингологическое исследование

Физикальное обследование ЛОР-органов проводилось всем пациентам, включенным в исследование, по традиционной методике с использованием эндоскопической стойки и эндоскопа 0 градусов KARL STORZ AIDA (Germany), для подтверждения или исключения эндоскопических признаков риносинусита.

2.2.2. Забор венозной крови

Взятие венозной крови осуществлялось при помощи вакуумной системы в пробирки Vacuette 3,5 ml с активатором свертывания и гелем. В дальнейшем пробирки подвергались центрифугированию с последующим отделением супернатанта (слоя жидкости, расположенного над осадком после центрифугирования) от форменных элементов крови, заморозкой полученного материала при температуре - 75°C.

2.2.3. Забор назального секрета

У здоровых добровольцев взятие назального отделяемого проводилось в соответствии с ранее описанной техникой с использованием 0.9% NaCl в объеме 15 мл и последующим центрифугированием полученных смывов, отделением и заморозкой супернатанта при температуре -75° С [95, 124].

У всех пациентов с ХРС взятие назального секрета проводилось при проведении лечебно-диагностической пункции с промыванием полости пазухи 0.9% NaCl в объеме 15 мл, с последующим центрифугированием полученных смывов, отделением и заморозкой супернатанта при температуре -75° С [95, 124].

2.2.4. Методы анализа сыворотки крови и назальных смывов

Количество НВЛ в материале оценивалось двумя способами:

1. Определением комплексов МПО-ДНК методом ИФА;
2. Определением дсДНК с использованием набора Quant-IT dsDNA PicoGreen.

Оба используемых метода определения внеклеточных ловушек обладают высокой чувствительностью [119]. Оценка комплексов МПО-ДНК методом ИФА является более специфичным методом определения нейтрофильных внеклеточных ловушек, что обусловлено отсутствием возможного влияния внеклеточной свободной ДНК, связанной с разрушением других клеток [119].

2.2.4.1. Определение комплексов миелопероксидаза – дезоксирибонуклеиновая кислота методом иммуноферментного анализа

Для определения комплексов МПО-ДНК в смывах и сыворотке крови проводилась сенсibilизация планшетов Nunc Polysorb антителами к МПО (МСА 1757, Bio-Rad, США) в количестве 75 мкл/лунку (концентрация 5 мкг/мл) в течение ночи при +4-8 °С. Не связавшиеся антитела трижды промывали фосфатно-солевым буфером (PBS), после чего свободные сайты связывания были блокированы 1%-ным бычьим сывороточным альбумином (БСА, ПанЭко) в течение 1 ч при комнатной температуре на шейкере. Далее вносили тестовые образцы и контроли, разведенные в PBS с 0,1% БСА. Инкубация осуществлялась в течение 2-х ч при комнатной температуре на шейкере, после чего проводилось отмывание PBS, и внесение антител к ДНК (ab27156, Abcam, США) на 1 ч. Далее проводилось отмывание и добавление вторичных антител к IgG2a мыши, конъюгированных с пероксидазой (115-035-206, Jackson ImmunoResearch, США) (конечное разведение 1:5000). Инкубация продолжалась в течение 1 ч при 37 °С на шейкере. После отмывания PBS вносили субстрат для пероксидазы - 3,3',5,5'-тетраметилбензидина

гидрохлорид (ТМБ). Инкубация проводилась при 37⁰ С до развития окраски. Реакцию учитывали на ИФА-ридере BioTek ELx 808 (BioTek, Германия) с длиной волны 450 нм.

2.2.4.2. Определение двуспиральной дезоксирибонуклеиновой кислоты с использованием красителя PicoGreen

Определение дсДНК осуществлялось по инструкции производителя с применением набора Quant-IT dsDNA PicoGreen. Биоматериал (сыворотка крови и назальные смывы) разводили в 4 раза однократным ТЕ реагентом (трис-ЭДТА буферный раствор, входит в состав набора). Интенсивность флуоресценции учитывали на флуориметре Synergy LX (BioTek, Германия) при максимуме поглощения 480 нм и максимуме испускания 520 нм.

2.2.5. Гистологическое исследование

У всех пациентов с ХРС, которым было проведено функциональное эндоскопическое вмешательство (n=60), включая пациента, который в предоперационном периоде принимал Азоксимера бромид (n=1), забор гистологического материала (воспаленной слизистой оболочки) проводился интраоперационно. Взятие биообъекта осуществлялось из структур области остиомеатального комплекса и околоносовых пазух при наличии воспалительных изменений, подтвержденных как эндоскопически, так и результатами КТ.

У остальных пациентов с ХРС, отказавшихся от хирургического лечения и получавших Азоксимера бромид (n=21), гистологическое исследование не проводилось.

Взятие гистологического материала (слизистой оболочки без воспалительных изменений) у группы пациентов с хирургической коррекцией внутриносовых структур без ХРС (n=15) проводилось в процессе функционального

эндоскопического вмешательства из области остиомеатального комплекса при отсутствии воспалительных изменений, подтвержденных как эндоскопически, так и результатами КТ.

С целью визуализации НВЛ в гистологическом материале использовался иммуногистохимический анализ. Биоптат помещали в стеклянную чашку Петри с Трис-буферным физиологическим раствором (TBS), который разделяли скальпелем на фрагменты размерами 20x30x3 мм. Образцы фиксировали в 2% параформальдегиде в TBS при комнатной температуре в течение 20 ч, переносили в штатив, где проводилось обезвоживание в последовательных разведениях этанола (70%, 80%, 90%, 96%, 100%, 100%), по 1 ч в каждом разведении. Образцы дважды промывали в 100% ксилоле в течение 1 ч, с последующим инкубированием в парафине при температуре 60°C в течение 1 ч. После затвердевания парафина из образцов были изготовлены срезы толщиной 3 мкм, которые помещали на поверхность воды в водяной бане при 37°C, откуда их перемещали на предметное стекло и инкубировали в течение ночи при температуре 40°C для улучшения адгезии парафина к стеклу.

Стекла со срезами помещались в стеклянный штатив, который погружали в растворы для обезвоживания и очистки в обратном порядке относительно предыдущего этапа, после чего штатив промывали в дистиллированной воде и далее в TBS. Стекла со срезами помещались в колбу, заполненную буфером (pH 9), нагретым до 70°C и проводили инкубацию в течение 1 ч с последующим трёхкратным промыванием в дистиллированной воде и погружением в TBS (pH 7,4). Остатки жидкости со стекол удалялись фильтровальной бумагой. Создание гидрофобного «заборчика» осуществлялось при помощи специального карандаша PAP-pen. Для предотвращения неспецифического связывания проводилась инкубация во влажной камере с блокирующим буфером при комнатной температуре в течение 60 мин.

После удаления блокирующего буфера наносили разведённые первичные антитела (комбинация крольчих антител против нейтрофильной эластазы; исходная концентрация 0,1 мг/мл; Sigma, США; и куриных антител против гистона H2B;

исходная концентрация 1 мкг/мл; Abcam, США). После инкубации во влажной камере в течение 10 ч при комнатной температуре предметные стекла трижды промывали TBS, после чего на них наносили вторичные антитела в блокирующем буфере (антитела осла против кроличьих антител, конъюгированные с Cy2 (исходная концентрация 1,5 мг/мл; Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., США) и антитела осла против куриных антител, конъюгированные с Cy3; исходная концентрация 1,5 мг/мл; Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., США). Инкубация продолжалась во влажной камере при комнатной температуре в течение 1 ч. На этом этапе ДНК окрашивали флуоресцентным красителем Hoechst 33342. Предметные стекла со срезами трижды промывали в TBS и 1 раз в дистиллированной воде, далее погружали в Mowiol 4-88. Клетки анализировали с использованием флуоресцентного микроскопа Leica DM LB (Leica Microsystems, Германия), а фотографирование проводили с помощью камеры Leica DC300F (Leica Microsystems, Германия). Для каждого образца ткани подсчитывали количество НВЛ, нетотических нейтрофилов и интактных нейтрофилов в каждом поле зрения.

2.2.6. Опросники

У всех пациентов из группы с ХРС (n=82) и у группы здоровых добровольцев (n=40) проводилась субъективная оценка качества жизни при помощи визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) [44] и опросника Sinonasal Outcome Test 22 (SNOT 22) [94], валидированного для использования на русском языке[41]. Оценка жалоб проводилась дважды – до лечения и через 3 месяца после лечения.

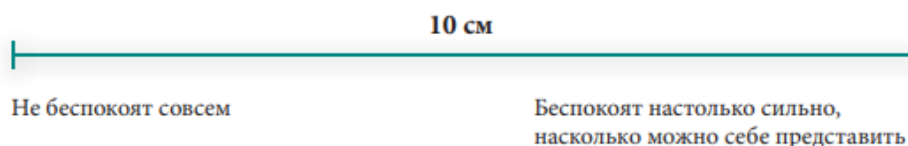


Рисунок 1 – Оценка степени тяжести ХРС с помощью ВАШ

Наиболее удобной для клинического использования при многих заболеваниях, в том числе и ХРС, является визуально-аналоговая шкала, с помощью которой можно оценить тяжесть течения болезни (Рисунок 1).

Больше информации для оценки качества жизни при ХРС дает опросник SNOT-22 (Sino-nasal Outcome Test-22), который состоит из 22 вопросов, использующих пятибалльную шкалу (Рисунок 2). Опросник SNOT-22 является доработанным вариантом версии SNOT-20, созданной на основе RSOM-31, который был разработан в 1995 [135]. Ранее предлагалось группировать вопросы SNOT-22 в подгруппы – домены [67, 148]. В нашей работе использовалось разделение вопросов базового опросника SNOT-22 на 5 доменов: ринологические симптомы, экстраназальные ринологические симптомы, ушные или лицевые симптомы, психологическая дисфункция, нарушение сна [67].

Принимая решение, какой балл поставить, учитывайте степень выраженности симптома и частоту его возникновения. Пожалуйста, выберите нужную оценку и обведите ее.	Отсутствие проявлений	Очень незначительные проявления	Легкие проявления	Проявления средней тяжести	Тяжелые проявления	Проявления «хуже не бывает»
1. Необходимость высмаркиваться	0	1	2	3	4	5
2. Чихание	0	1	2	3	4	5
3. Насморк	0	1	2	3	4	5
4. Кашель	0	1	2	3	4	5
5. Ощущение стекания отделяемого по задней стенке глотки	0	1	2	3	4	5
6. Густые выделения из носа	0	1	2	3	4	5
7. Заложенность ушей	0	1	2	3	4	5
8. Головокружение	0	1	2	3	4	5
9. Ушная боль	0	1	2	3	4	5
10. Лицевая боль/давление	0	1	2	3	4	5
11. Трудность при засыпании	0	1	2	3	4	5
12. Ночные пробуждения	0	1	2	3	4	5
13. Нарушение ночного сна	0	1	2	3	4	5
14. Пробуждение без чувства отдыха	0	1	2	3	4	5
15. Утомляемость	0	1	2	3	4	5
16. Снижение работоспособности	0	1	2	3	4	5
17. Снижение концентрации	0	1	2	3	4	5
18. Неудовлетворенность/беспокойство/раздражительность	0	1	2	3	4	5
19. Снижение настроения	0	1	2	3	4	5
20. Чувство неловкости	0	1	2	3	4	5
21. Вкус, обоняние	0	1	2	3	4	5
22. Затруднение носового дыхания/заложенность носа	0	1	2	3	4	5

Рисунок 2 – Опросник Sinonasal Outcome Test-22 (SNOT-22)

2.3 Статистическое исследование

На основе полученных в ходе исследования данных сформированы электронные таблицы в приложении MS Excel. Дальнейшая статистическая обработка полученных данных производилась с использованием программного обеспечения R (версия 4.0.4), статистического пакета STATISTICA (версия 10). Для проверки различий между исследуемыми группами по демографическим параметрам использовали однофакторный анализ ANOVA (в случае возраста) и критерий хи-квадрат Пирсона (в случае распределения по полу). Данные по исследуемым количественным признакам представляли в виде медианы и межквартильного размаха [Me (25,75)]. Для определения достоверности межгрупповых различий использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни, для оценки динамики показателей – критерий Уилкоксона. Уровень значимости для проверки гипотезы в статистическом исследовании $p < 0.05$.

ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РИНОСИНУСИТЕ

3.1. Исследование нейтрофильных внеклеточных ловушек в назальных смывах и венозной крови

Забор биологического материала: назальных смывов и венозной крови проводился у 82 пациентов с диагнозом хронический риносинусит, и 40 здоровых добровольцев (контрольная группа). Метод забора материала для исследования смывов и венозной крови описаны в раздел 2.2.2. - 2.2.3.

Перед анализом пациенты с ХРС и пациенты контрольной группы были проанализированы по демографическим параметрам (полу, возрасту) и их различия были сопоставимы ($p > 0.05$). Как видно из Таблицы 1, средний возраст в контрольной группе составил 34 ± 10 лет, средний возраст пациентов с ХРС составил 37 ± 11 лет.

Таблица 1 – Демографические параметры (пол, возраст) в исследуемых группах

Параметр	Контрольная группа, N = 40 ¹	Основная группа, N = 82 ¹	p-value ²
Возраст	34 ± 10	37 ± 11	0.23*
Пол			>0.05**
женский	21 (52%)	39 (48%)	
мужской	19 (48%)	43 (52%)	

¹Среднее ± стандартное отклонение; число субъектов (%)

²T-критерий Стьюдента*; Критерий хи-квадрат Пирсона**

Методы анализа биологического материала с целью оценки количества НВЛ описаны в разделе 2.2.4. Количество внеклеточных ловушек в назальных смывах и сыворотке венозной крови, исследованные с помощью иммуноферментного анализа, представлены в виде медианы и межквартильного интервала в Таблице 2, а также наглядно отражены на Рисунке 3.

Таблица 2 – Количественное определение НВЛ (сравнение между контрольной группой и группой пациентов с ХРС)

Параметр	Контроль, N = 40 ¹	ХРС, N = 82 ¹	p-value ²
Комплексы МПО-ДНК в сыворотке (ОП ³)	0.95 (0.59, 1.26)	1.37 (1.11, 1.62)	<0.001
Комплексы МПО-ДНК в смывах (ОП)	0.14 (0.09, 0.31)	0.82 (0.59, 0.93)	<0.001
дсДНК в сыворотке(нг/мл)	92 (80, 115)	128 (99, 145)	<0.001
дсДНК в смывах (нг/мл)	11 (5, 20)	31 (18, 45)	<0.001

¹Медиана (межквартильный интервал)

²Критерий Манна-Уитни

³ОП – оптическая плотность

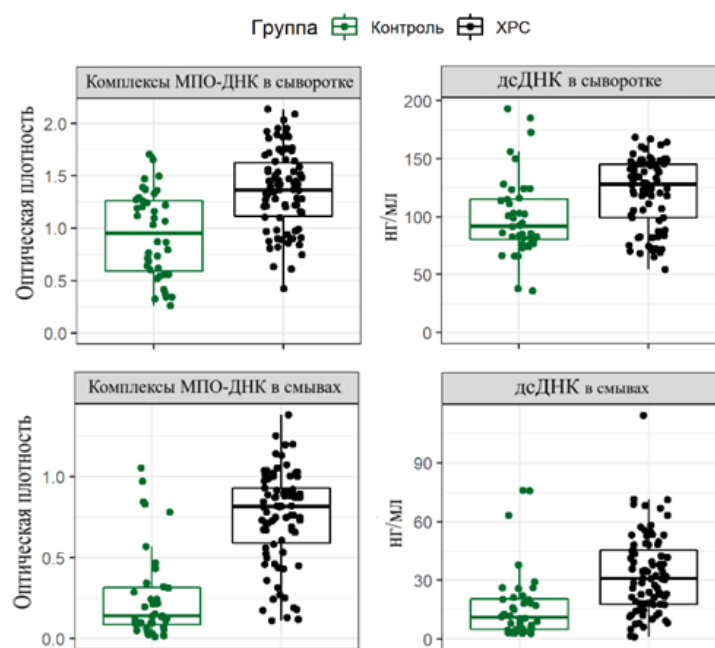


Рисунок 3 – Количественное определение НВЛ в группе здоровых добровольцев и в объединенной группе пациентов с ХРС

Результаты количественного сравнения комплексов МПО-ДНК и внеклеточной дсДНК в исследуемом биологическом материале показали, что между группами пациентов с ХРС до лечения (n=82) и здоровых добровольцев (n=40) определялась статистически значимая разница (p<0.05) (Таблица 2). Наибольшие отличия между группой пациентов с ХРС до лечения и контрольной

группой были заметны при определении комплексов МПО-ДНК в смывах (Таблица 2, Рисунок 3).

Резюме

Таким образом, полученные в работе результаты показали, что у пациентов с риносинуситом наблюдается повышение количества НВЛ по сравнению с контрольной группой, что подтверждает предположение о непосредственном участии НЕТоза в воспалительных процессах при ХРС без полипов вне обострения. Повышение НВЛ в сыворотке крови при ХРС позволяет утверждать, что локальный воспалительный процесс в полости носа и околоносовых пазухах может иметь системное влияние на организм пациента.

3.2. Исследование нейтрофильных внеклеточных ловушек в гистологическом материале пациентов с хроническим риносинуситом

Забор биологического материала (биоптата) проводился у 61 пациента (n=61) с диагнозом хронический риносинусит, из которых 60 пациентов (n=60) в предоперационном периоде не получали лечения в течение 1 месяца. Один пациент (n=1) получал в предоперационном периоде Азоксимера бромид и результаты распределения НВЛ в биоптате этого пациента описаны отдельно в разделе 4.2.

В качестве контрольной группы для оценки НВЛ в воспаленной слизистой оболочке был использован гистологический материал, полученный от 15 (n=15) пациентов без сопутствующих воспалительных процессов в полости носа и околоносовых пазухах, преимущественно с искривлением перегородки носа и показаниями к хирургическому лечению. Методика забора материала и подготовка биоптата к иммуногистохимическому анализу описаны в главе 2.2.5.

В соответствии с демографическими параметрами (пол, возраст) группы были сравнимы между собой ($p > 0,05$) (Таблица 3).

Таблица 3 – Демографические параметры (пол, возраст) в исследуемых группах

Параметр	Пациенты без ХРС, N = 15 ¹	Пациенты с ХРС, N = 60 ¹	p-value ²
Возраст	39 ± 10	38 ± 14	0.78*
Пол			>0.9**
женский	7 (46%)	32 (53%)	
мужской	8(53.3%)	28 (47%)	

¹Среднее ± стандартное отклонение; число субъектов (%)

² Т-критерий Стьюдента*; Критерий хи-квадрат Пирсона**

Проведение анализа гистологического материала проводилось на основе особенностей окраски внутриклеточных структур, являющихся маркерами внеклеточных ловушек и НЕТоза. Различие между интактными или неактивированными нейтрофилами и НВЛ (а также нейтрофилами на стадии НЕТоза – нетотические нейтрофилы) проводилось на основании следующего критерия. В неактивированных нейтрофилах гистон Н2В локализуется исключительно в ядрах, тогда как нейтрофильная эластаза концентрируется в азурофильных гранулах, расположенных в цитозоле клетки. Следовательно, флуоресцентное свечение, полученные от этих белков после их связывания с моноклональными антителами (первичные), а затем с поликлональными антителами (вторичные), мечеными флуоресцентными метками, не должно перекрываться. Однако при активации НЕТоза, конечным продуктом которого является деконденсированный ядерный хроматин с адгезированными к нему бактерицидными белками, в частности, гистонами и НЭ, флуоресцентное свечение от антител против НЭ, Н2В, а также ДНК частично перекрывается. Тогда красное (Н2В), зеленое (НЭ) и голубое (ДНК) свечение при наложении должно отображаться в виде беловатого цвета.

В работе было обнаружено большое количество нейтрофилов в состоянии НЕТоза в образцах пациентов с ХРС. На Рисунке 4 можно видеть области перекрывания трех цветов (указаны белыми стрелками) в виде белых структур, свидетельствующих о наличии деконденсированного хроматина. На Рисунке 4 также

можно видеть интактные нейтрофилы, не подвергшиеся НЕТозу, у которых все три цвета пространственно разделены (указаны красными стрелками).

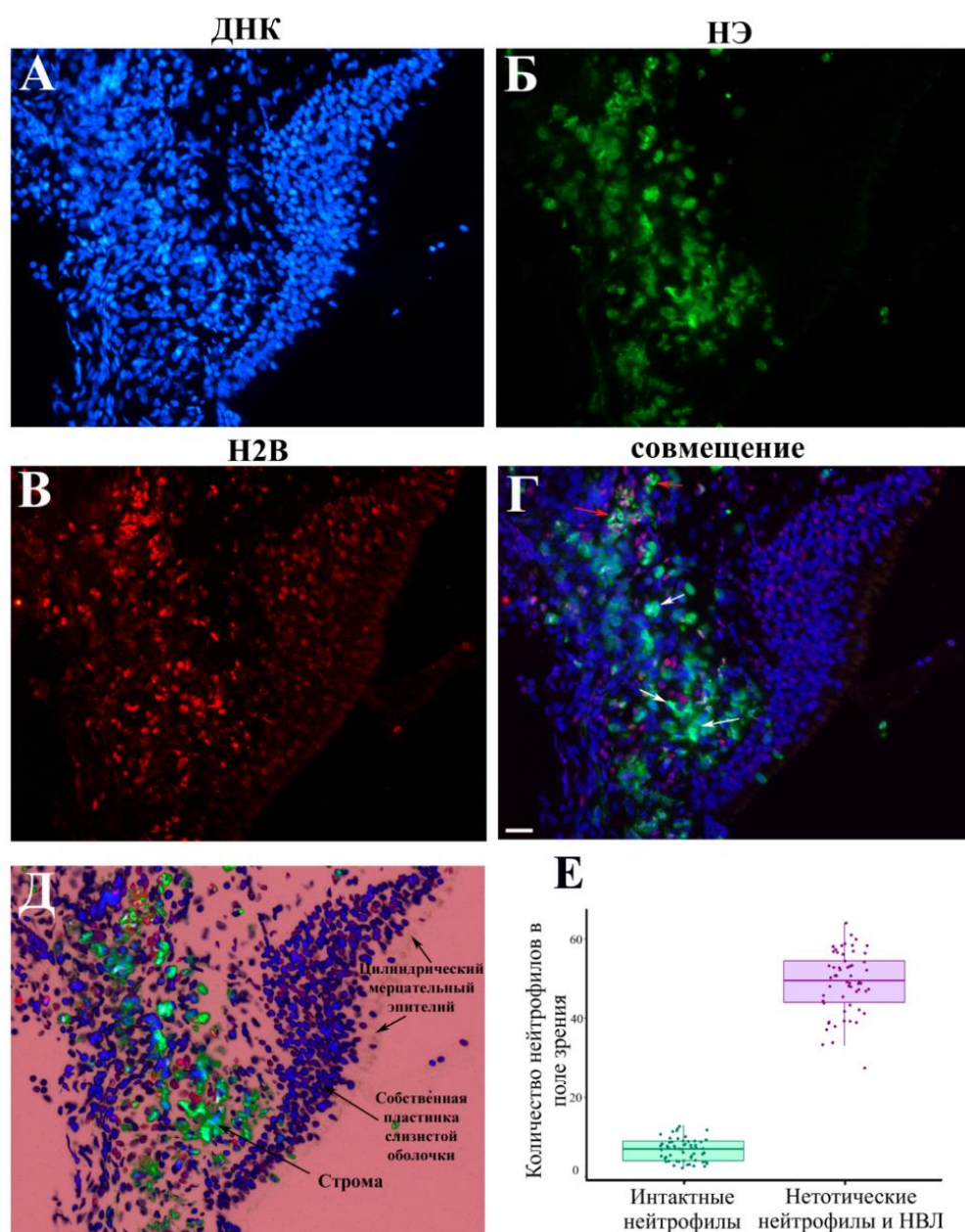


Рисунок 4 – Широкопольная флуоресцентная микроскопия парафиновых срезов слизистой оболочки носовых пазух пациентов с ХРС без полипов

На фотографиях (А,Б,В,Г) показана область слизистой оболочки носовой пазухи, полученной от одного из 60 пациентов (n=60) с ХРС без полипов и проанализированной с использованием иммуногистохимического метода. Окрашивание ДНК проводили с помощью Hoechst 33342 (А, голубое свечение). Нейтрофильную эластазу (НЭ) окрашивали с помощью первичных кроличьих

антител к НЭ с последующим окрашиванием вторичными антителами осла против кроличьих антител, конъюгированных с Cy2 (Б, зеленое свечение). Гистон H2В окрашивали с помощью первичных куриных антител против гистона H2В с последующим окрашиванием вторичными антителами осла против куриных антител, конъюгированных с Cy3 (В, красное свечение). На (Г) представлено совмещение трех цветов. Белыми стрелками указаны нейтрофильные ловушки (НВЛ) и нетотические нейтрофилы, красными стрелками – интактные нейтрофилы. Объектив, 20х. Шкала, 25 мкм. (Д) Можно видеть расположение НВЛ/нетотических нейтрофилов в строме под утолщенной пластинкой слизистой оболочки. На гистограмме (Е) представлено распределение НВЛ и интактных нейтрофилов в образцах парафиновых срезов слизистой оболочки носовых пазух пациентов с ХРС без полипов. (n=60).

При изучении слизистой оболочки пациентов с ХРС преимущественное распространение нетотических нейтрофилов и НВЛ наблюдается в строме (Рисунок 4Д), что не отличается от результатов других работ [26, 48].

В работе также были проанализированы образцы слизистой оболочки, полученные от здоровых доноров (Рисунок 5), в которых не было обнаружено значимых скоплений нейтрофилов или НВЛ. При оценке полученных срезов были обнаружены преимущественно интактные нейтрофилы, хотя в отдельных образцах, наблюдались единичные активированные нейтрофилы. Распределение активированных нейтрофилов в слизистой оболочке пациентов с ХРС без полипов вне обострения и контрольной группы было посчитано и отображено на гистограммах (Рисунок 4Е, 5Д, 6, Таблица 4).

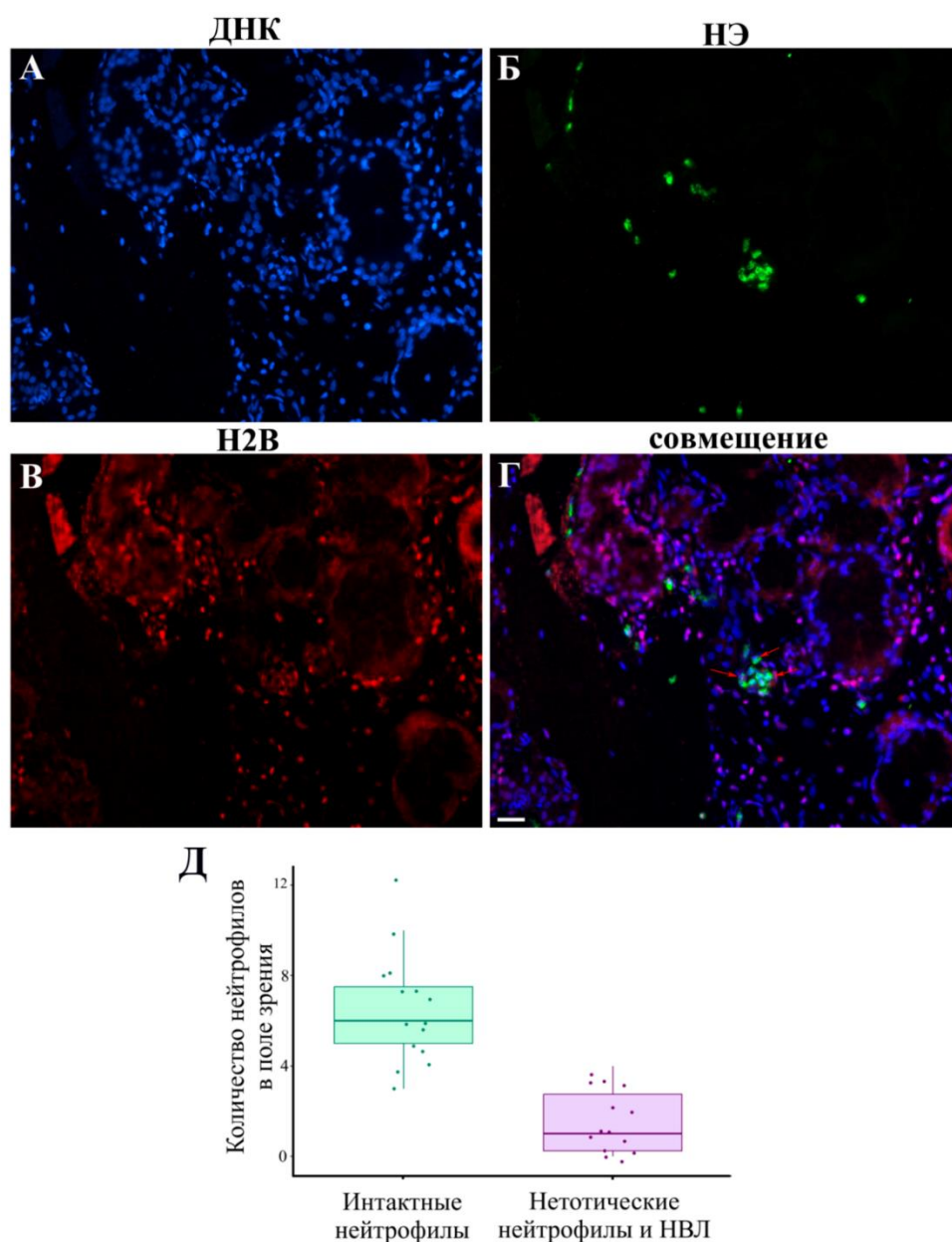


Рисунок 5 – Широкопольная флуоресцентная микроскопия парафиновых срезов слизистой оболочки носовых пазух доноров

На фотографиях (А,Б,В,Г) показана область слизистой оболочки околоносовой пазухи одного из 15 доноров (n=15), в которой полностью отсутствуют НВЛ. Можно видеть небольшое количество интактных нейтрофилов (указаны красными стрелками). Окрашивание антителами соответствует показанному на Рисунке 4. Объектив, 20х. Шкала, 25 мкм. На гистограмме (Д) представлено распределение НВЛ и интактных нейтрофилов в образцах парафиновых срезов слизистой оболочки носовых пазух доноров. (n=15).

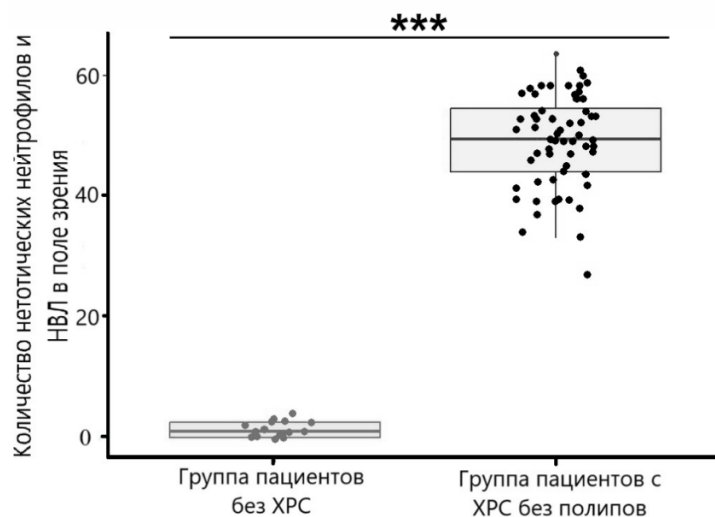


Рисунок 6 – Распределение НВЛ/нетотических нейтрофилов в образцах парафиновых срезов слизистой оболочки околоносовых пазух пациентов с ХРС без полипов и здоровых доноров

На гистограмме представлено распределение НВЛ/нетотических нейтрофилов в образцах парафиновых срезов слизистой оболочки околоносовых пазух пациентов с ХРС без полипов ($n=60$) и здоровых доноров ($n=15$). *** $p < 0.001$.

Таблица 4 – Распределение НВЛ в тканях

Параметр	Пациенты с ХРС, N=60 ¹	Пациенты без риносинусита, N=15 ¹	p-value ²
Нетотические нейтрофилы и НВЛ	49,5 (44, 55)	1 (0,3)	<0.001

¹Медиана (межквартильный интервал)

²Критерий Манна-Уитни

Медиана [МКИ] количества НВЛ/нетотических нейтрофилов в образцах парафиновых срезов слизистой оболочки околоносовых пазух у пациентов без ХРС составила 1 [0;3], тогда как у пациентов с ХРС - 49,5 [44;55]. Межгрупповое сравнение показало наличие статистически значимой разницы между числом нетотических нейтрофилов и НВЛ в гистологическом материале пациентов с ХРС ($n=60$) и у пациентов без риносинусита ($n=15$). *** $p < 0.001$.

Резюме

Сравнение результатов исследования воспаленной слизистой оболочки околоносовых пазух и слизистой оболочки без воспалительных изменений методом ИГХ обнаружило существенное повышение количества нейтрофилов в состоянии НЕТоза (НВЛ) у группы пациентов с ХРС вне обострения по сравнению с контрольной группой без признаков риносинусита. Преимущественное распространение НВЛ в стромальном (с хорошо развитым сосудистым руслом) слое слизистой оболочки может объяснить повышение маркеров НВЛ в периферической крови у пациентов с ХРС, что было отражено в главе 3.1.

Повышение количества НВЛ в воспаленной слизистой оболочке, венозной крови и назальных смывах у пациентов с ХРС по сравнению с контрольными группами подтверждает непосредственное участие процессов НЕТоза в воспалительных процессах при ХРС. Результаты исследования позволяют рассматривать НВЛ как потенциальные мишени для воздействия на звенья патогенеза при ХРС.

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АЗОКСИМЕРА БРОМИДА НА НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЛОВУШКИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РИНОСИНУСИТЕ

Практический интерес представленной работы связан с изучением влияния на патогенез ХРС путем изменения активности НЕТоза в воспаленной слизистой оболочке околоносовых пазух и полости носа. В данной главе представлены результаты изучения применения Азоксимера бромида при ХРС без полипов как иммунокорректора, потенциально способного влиять на процессы НЕТоза. Результаты приема Азоксимера бромида пациентами с ХРС изучались в лабораторных условиях и клинической практике настоящего исследования.

Лабораторная часть исследовательской работы включала оценку динамики изменений количества НВЛ в назальных смывах и периферической крови, а также оценку распределения и количества НВЛ в слизистой оболочке пациента с ХРС после курса Азоксимера бромида в предоперационном периоде.

Клиническая часть исследования была посвящена сравнительной оценке влияния хирургического вмешательства и курса лечения Азоксимера бромидом на качество жизни пациентов с ХРС.

Перед анализом все пациенты в клинических группах были проанализированы по демографическим параметрам (полу, возрасту) и их различия были сопоставимы ($p > 0.05$) (Таблица 5).

Таблица 5 – Демографические параметры (пол, возраст) в исследуемых группах

Параметр	ХРС, только с хирургическим вмешательством, N = 60 ¹	ХРС, с приемом Азоксимера бромида, N = 22 ¹	Здоровые добровольцы, N = 40 ¹	Хирургическое вмешательство, без ХРС N = 15 ¹	p-value ²
Возраст	38 ± 14	34 ± 10	34 ± 10	39 ± 10	0,29
Пол					
женский	32 (53%)	11 (50%)	21 (52%)	7 (46%)	0,98
мужской	28 (47%)	11 (50%)	19 (48%)	8(53.3%)	

¹Среднее ± стандартное отклонение; число субъектов (%)

²ANOVA; Критерий хи-квадрат Пирсона

4.1. Влияние Азоксимера бромида на нейтрофильные внеклеточные ловушки в назальных смывах и венозной крови пациентов с хроническим риносинуситом

В соответствии с разделением на клинические группы, описанном в разделе 2.1.4., курс лечения Азоксимера бромидом получали 22 пациента с ХРС. Взятие назальных смывов и венозной крови для оценки маркеров НВЛ осуществлялось в соответствии с методами, описанными в разделах 2.2.2 и 2.2.3, перед началом лечения и по завершении курса лечения Азоксимера бромидом.

Перед оценкой влияния Азоксимера бромида на НВЛ было проведено сравнение показателей НЕТоза у пациентов с ХРС для оценки однородности подгрупп (Таблица 6). Статистически значимых различий по количеству маркеров НВЛ (комплексы МПО-ДНК и дсДНК) между подгруппами пациентов с ХРС обнаружено не было ($p > 0.05$).

Таблица 6 – Межгрупповое сравнение групп пациентов с ХРС по маркерам НВЛ до лечения

Параметр	Азоксимера бромид N = 22 ¹	Хирургическая операция N = 60 ¹	p-value ²
Комплексы МПО-ДНК в сыворотке (ОП ³)	1.37 (0.93, 1.54)	1.38 (1.19, 1.64)	0.7
Комплексы МПО-ДНК в смывах (ОП)	0.85 (0.45, 0.98)	0.81 (0.64, 0.92)	0.8
дсДНК (нг/мл) в сыворотке	127 (91, 145)	129 (101, 145)	>0.9
дсДНК (нг/мл) в смывах	27 (19, 46)	33 (18, 45)	>0.9

¹Медиана (межквартильный интервал)

²Критерий Манна-Уитни

³ОП – оптическая плотность

Сравнение количества НВЛ у исследуемой группы пациентов с ХРС, получавших Азоксимера бромид (n=22), показало наличие статистически значимой разницы до и после лечения (Таблица 7) ($p < 0.05$). Количество НВЛ в назальных смывах и венозной крови у пациентов с ХРС (n=22) снижалось после курса лечения Азоксимера бромидом (Рисунок 7). Количество комплексов МПО-ДНК и

внеклеточной дсДНК после лечения Азоксимера бромидом в исследуемом материале снижалось более значительно в назальных смывах, чем в крови (Рисунок 7).

Таблица 7 – Количественное определение НВЛ (сравнение между визитами в группе пациентов, принимавших Азоксимера бромид)

Параметр	Азоксимера бромид, (до лечения) N = 22 ¹	Азоксимера бромид (после лечения) N = 22 ¹	p-value ³
Комплексы МПО-ДНК в сыворотке (ОП ²)	1.37 (0.93, 1.54)	0.60 (0.51, 0.89)	<0.001
Комплексы МПО-ДНК в смывах (ОП ²)	0.85 (0.45, 0.98)	0.12 (0.07, 0.35)	<0.001
дсДНК в сыворотке(нг/мл)	127 (91, 145)	81 (73, 99)	<0.001
дсДНК в смывах (нг/мл)	27 (19, 46)	19 (14, 24)	0.003

¹Медиана (межквартильный интервал)

² ОП – оптическая плотность

³Критерий Вилкоксона

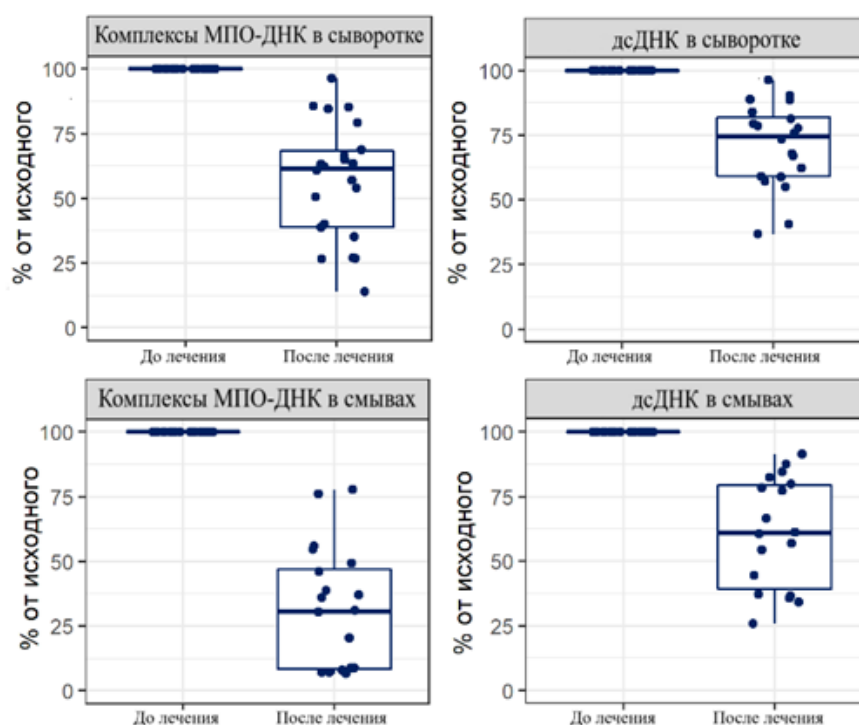


Рисунок 7 – Динамика количества НВЛ при приеме Азоксимера бромида (указаны значения параметров в % от исходного уровня)

Количество НВЛ (комплексы МПО-ДНК и внеклеточная дсДНК) в сыворотке крови и назальных смывах у пациентов с ХРС вне обострения до и после лечения Азоксимера бромидом (n=22), а также у здоровых доноров (n=40) (контрольная

группа) были сопоставлены и отражены на Рисунке 8. Показатели НВЛ во внеклеточной ДНК в смывах пациентов с ХРС после проведенного лечения приблизились к показателям здоровых пациентов.

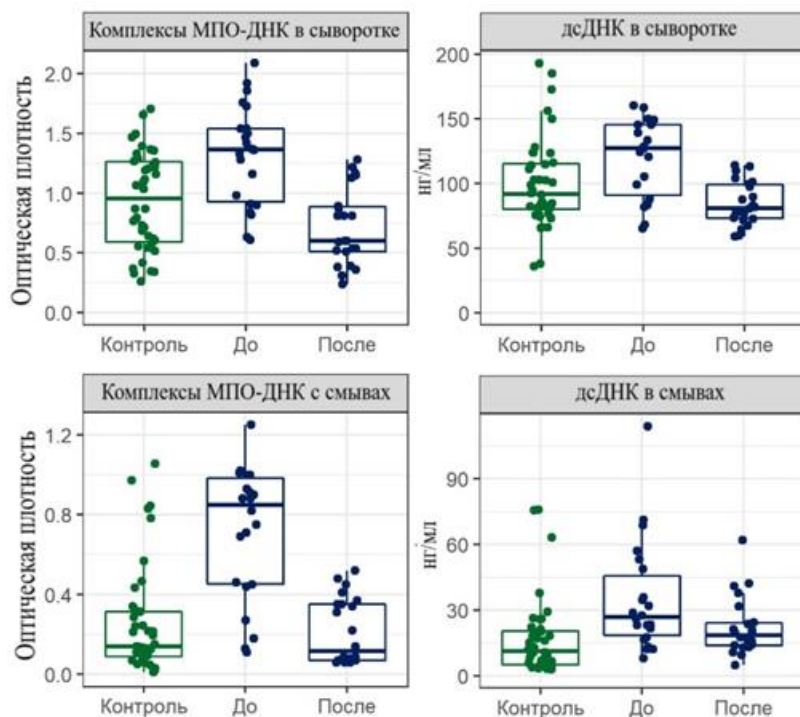


Рисунок 8 – Количество НВЛ при приеме Азоксимера бромидом в сравнении с контрольной группой

Резюме

После проведенного курса лечения Азоксимера бромидом у пациентов с ХРС определялось снижение уровня НВЛ в назальных смывах и венозной крови в динамике. Приближение показателей НВЛ в смывах и крови к нормальным значениям (сопоставимым с контрольной группой) (Рисунок 8) после проведенного лечения говорит о наличии иммунокорректирующего влияния у Азоксимера бромидом на процессы НЕТоза, которые являются частью воспалительного процесса при ХРС.

4.2. Влияние Азоксимера бромида на нейтрофильные внеклеточные ловушки в слизистой оболочке пациентов с хроническим риносинуситом

Одному пациенту (n=1) из группы с ХРС (n=61), согласившихся на хирургическое лечение, в предоперационном периоде был назначен курс Азоксимера Бромида в той же дозировке, что и остальным пациентам, принимавшим этот иммунокорректор в качестве альтернативы хирургическому лечению. Возраст пациента на момент включения в исследование составил 38 лет, пол мужской. Пациенту проводились обследования, связанные с забором крови, отделяемого из носа (дважды – до и после завершения курса Азоксимера бромида), биоптата из области наибольшего воспаления по результатам КТ (однократно интраоперационно).

Результаты оценки количества и динамики изменения маркеров НВЛ в назальных смывах и венозной крови этого пациента оценивались совокупно (n=22) с показателями остальных пациентов, которые отказались от хирургического лечения.

Гистологический материал (воспаленная слизистая оболочка верхнечелюстной пазухи), полученный от этого пациента (n=1) оценивался отдельно от биоптата остальных пациентов (n=60), согласившихся на хирургическое лечение, с целью изучения процессов НЕТоза в воспаленной слизистой оболочке пациента с ХРС вне обострения после курса лечения Азоксимера бромидом (Рисунок 9).

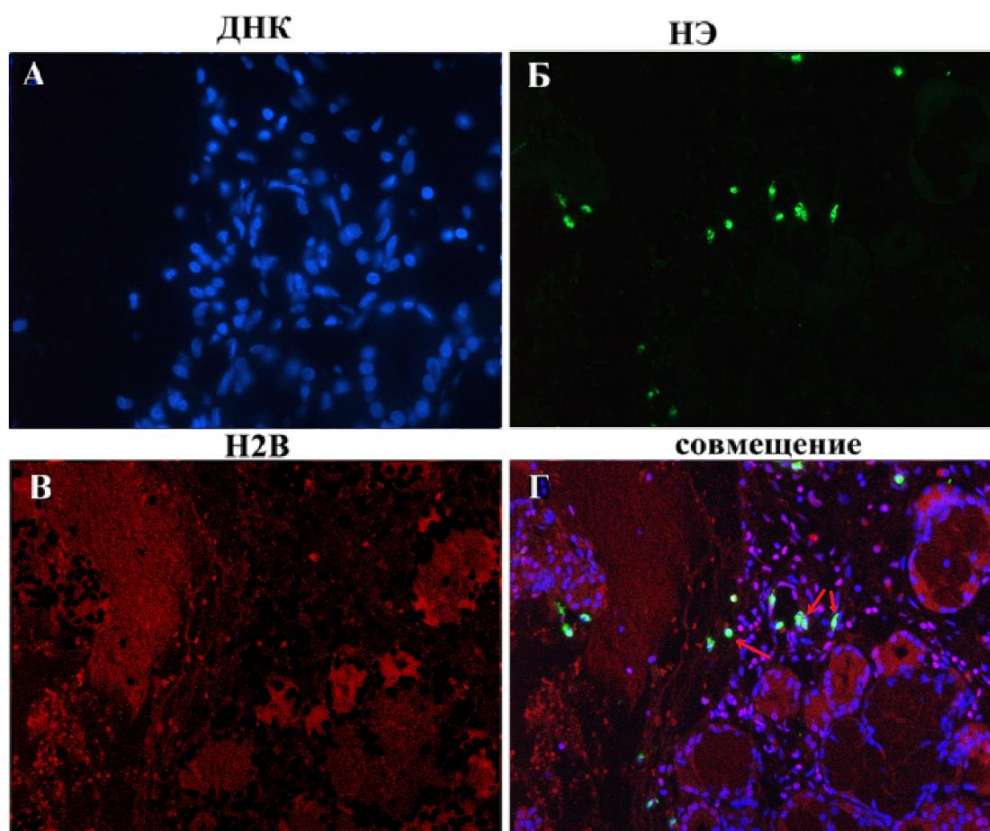


Рисунок 9 – Широкопольная флуоресцентная микроскопия парафинового среза слизистой оболочки носовой пазухи пациента, получавшего Азоксимера бромид в предоперационном периоде. Окраска моноклональными антителами соответствует представленной на Рисунке 4. Объектив, 20х. Шкала, 25 мкм

На Рисунке 9 (фотографии А, Б, В, Г) показана область слизистой оболочки пазухи носа пациента, получавшего Азоксимера бромид в предоперационном периоде, в которой отсутствуют НВЛ. Можно видеть небольшое количество интактных нейтрофилов (указаны красными стрелками), которые располагались преимущественно в стромальном слое слизистой оболочки. Воспаленная слизистая оболочка пациента с ХРС после курса лечения Азоксимера бромидом имела существенные отличия по количеству НВЛ и нетотических нейтрофилов по сравнению с гистологическим материалом, полученным от пациентов с ХРС (n=60), рассмотренным в главе 3.2 (Рисунок 4).

Резюме

Таким образом, у пациента с ХРС без полипов вне обострения после приема курса Азоксимера бромидом (интраназально) практически не определялись НВЛ и нетотические нейтрофилы в воспаленной слизистой оболочке. При проведении функционального эндоскопического вмешательства область, из которой был взят фрагмент слизистой оболочки, имела воспалительные изменения, характерные для ХРС, и не отличалась от места взятия биоптата у других пациентов с ХРС (n=60). Благоприятная картина распределения нейтрофилов после курса лечения Азоксимера бромидом указывает на потенциальную эффективность препарата, хотя для получения статистически значимых результатов и их наглядного представления необходимы дальнейшие исследования на большей выборке пациентов.

4.3. Исследование влияния хронического риносинусита на качество жизни

Оценка клинической эффективности проведенного лечения всех пациентов с ХРС проводилась при помощи использования общепринятых опросников ВАШ и SNOT-22, описанных в главе 2.2.6. После обработки результатов проведено сравнение подгрупп пациентов с ХРС, которые получали только хирургическое лечение (n=60) и которые получали только лечение Азоксимера бромидом (n=21). Результаты опроса пациента (n=1), который получал Азоксимера бромид в предоперационном периоде, в этой части исследования не оценивались. Оценка влияния ХРС на качество жизни проводилась в том числе для оценки степени тяжести риносинусита у пациентов, включенных в исследование. Для повышения информативности полученных данных, вопросы опросника SNOT-22 группировались в домены, описанные в главе 2.2.6.

Медиана [МКИ] баллов по ВАШ у всех пациентов с ХРС была 6,65 [6,1; 7,0] балла. Значение ВАШ в диапазоне 3-7 баллов (средняя тяжесть) было отмечено у 67% (n=66) пациентов с ХРС. Значение по ВАШ более 7 баллов (тяжелое течение)

наблюдалось у 33% пациентов с ХРС (n=27). Пациентов с баллами по ВАШ до 3 баллов (легкая степень) в исследовании не было.

В подгруппе пациентов, которые получали в качестве лечения только Азоксимера бромид (n=21), перед лечением у 76,2% пациентов (n=16) баллы по ВАШ соответствовали диапазону 3-7 баллов (средняя тяжесть), у 23,8% (n=5) – более 7 баллов (тяжелое течение).

У пациентов, которым провели только хирургическое лечение (n=60), в 63,3% (n=38) результаты по ВАШ соответствовали диапазону 3-7 баллов (средняя тяжесть), в 36,7% (n=22) – более 7 баллов (тяжелое течение).

При анализе результатов опросника SNOT-22 у всех пациентов с ХРС медиана [МКИ] суммы баллов по SNOT-22 до лечения составила 34 [32;36] балла. Распределение симптомов средней и более степени выраженности SNOT-22 отражено в Таблице 8.

Таблица 8 – Частота встречаемости и распределение симптомов средней и большей степени тяжести (оценка ≥ 3 баллов для каждого пункта SNOT 22) в исследуемых группах до и после лечения

Симптом	До		После	
	Азоксимера бромид, N = 21 ¹	Хирургическая операция, N = 60 ¹	Азоксимера бромид, N = 21 ¹	Хирургическая операция, N = 60 ¹
Затруднение носового дыхания или заложенность носа	19 (90%)	52 (87%)	3 (14%)	1 (1.7%)
Снижение работоспособности	8 (38%)	45 (75%)	6 (29%)	33 (55%)
Лицевая боль/давление	9 (43%)	42 (70%)	0 (0%)	1 (1.7%)
Необходимость высмаркиваться	6 (29%)	38 (63%)	0 (0%)	3 (5.0%)
Постназальный затек	11 (52%)	33 (55%)	0 (0%)	6 (10%)
Густое отделяемое из носа	6 (29%)	32 (53%)	0 (0%)	0 (0%)
Насморк	6 (29%)	22 (37%)	1 (4.8%)	0 (0%)
Неудовлетворенность/ Раздражительность	5 (24%)	18 (30%)	1 (4.8%)	6 (10%)
Вкус, обоняние	4 (19%)	9 (15%)	2 (9.5%)	0 (0%)
Трудность при засыпании	3 (14%)	9 (15%)	2 (9.5%)	4 (6.7%)

Продолжение таблицы 8

Симптом	До		После	
	Азоксимера бромид, N = 21 ¹	Хирургическая операция, N = 60 ¹	Азоксимера бромид, N = 21 ¹	Хирургическая операция, N = 60 ¹
Утомляемость	8 (38%)	4 (6.7%)	2 (9.5%)	0 (0%)
Снижение настроения	3 (14%)	1 (1.7%)	1 (4.8%)	0 (0%)
Нарушение ночного сна	1 (4.8%)	2 (3.3%)	1 (4.8%)	0 (0%)
Пробуждение без чувства отдыха	2 (9.5%)	1 (1.7%)	2 (9.5%)	0 (0%)
Ночные пробуждения	3 (14%)	0 (0%)	2 (9.5%)	0 (0%)
Заложенность ушей	0 (0%)	2 (3.3%)	0 (0%)	0 (0%)
Чихание	1 (4.8%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Чувство неловкости	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Головокружение	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Кашель	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Ушная боль	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

¹n (%)

Медиана [МКИ] баллов по ВАШ у пациентов до хирургического лечения составила 6,4 [6,1;6,9] балла, а после 4,8 [4,50;5,30] балла. Медиана [МКИ] баллов по ВАШ у пациентов до приема Азоксимера бромида составила 6,7 [6,3;7,05] балла, после лечения 4,2 [3,50;4,70] балла (Таблица 9, Рисунок 10, Рисунок 11).

Из группы пациентов, получивших только консервативное лечение, при анализе результатов опросника SNOT-22, медиана [МКИ] суммы баллов до лечения составила 33 [32;36] балла, после лечения – 24 [22;25] балла. У группы с хирургическим вмешательством, медиана [МКИ] суммы баллов по SNOT-22 до лечения составила 34 [32;36] балла, после лечения – 19 [18;21,25] баллов (Таблица 9, Рисунок 10).

Таблица 9 – Тяжесть ХРС по шкале ВАШ и опроснику SNOT 22 (внутригрупповые сравнения – до и после лечения)

Параметр	Азоксимера бромид, N = 21				Хирургическое вмешательство, N = 60			
	До ¹	После ¹	Изменение ¹	p-value ²	До ¹	После ¹	Изменение ¹	p-value ²
Баллы по ВАШ	6.4 (6.1, 6.9)	4.8 (4.5, 5.3)	-1.5 (-1.7, -1.3)	<0.001	6.7 (6.3, 7.0)	4.2 (3.5, 4.7)	-2.5 (-2.9, -1.9)	<0.001
Сумма баллов SNOT 22	33 (32, 36)	24 (22, 25)	-10 (-12, -9)	<0.001	34 (32, 36)	19 (18, 21)	-14 (-17, -13)	<0.001
Ринологические симптомы	12 (11, 13)	8 (7, 8)	-4 (-5, -4)	<0.001	13 (12, 14)	5 (4, 6)	-8 (-9, -6)	<0.001
Экстраназальные симптомы	5 (4, 6)	3 (2, 3)	-2 (-3, -1)	<0.001	6 (5, 6)	2 (2, 4)	-3 (-4, -2)	<0.001
Ушные/ лицевые симптомы	4 (3, 5)	2 (2, 3)	-2 (-2, -1)	<0.001	4 (3, 5)	1 (1, 2)	-2 (-3, -2)	<0.001
Психологическая дисфункция	12 (11, 14)	10 (9, 11)	-2 (-3, -2)	<0.001	12 (11, 12)	10 (9, 11)	-2 (-3, -1)	<0.001
Дисфункция сна	7 (5, 9)	5 (4, 7)	-1 (-2, -1)	<0.001	5 (4, 7)	4 (3, 5)	-1 (-2, -1)	<0.001

¹Медиана (межквартильный интервал)

²Критерий Уилкоксона

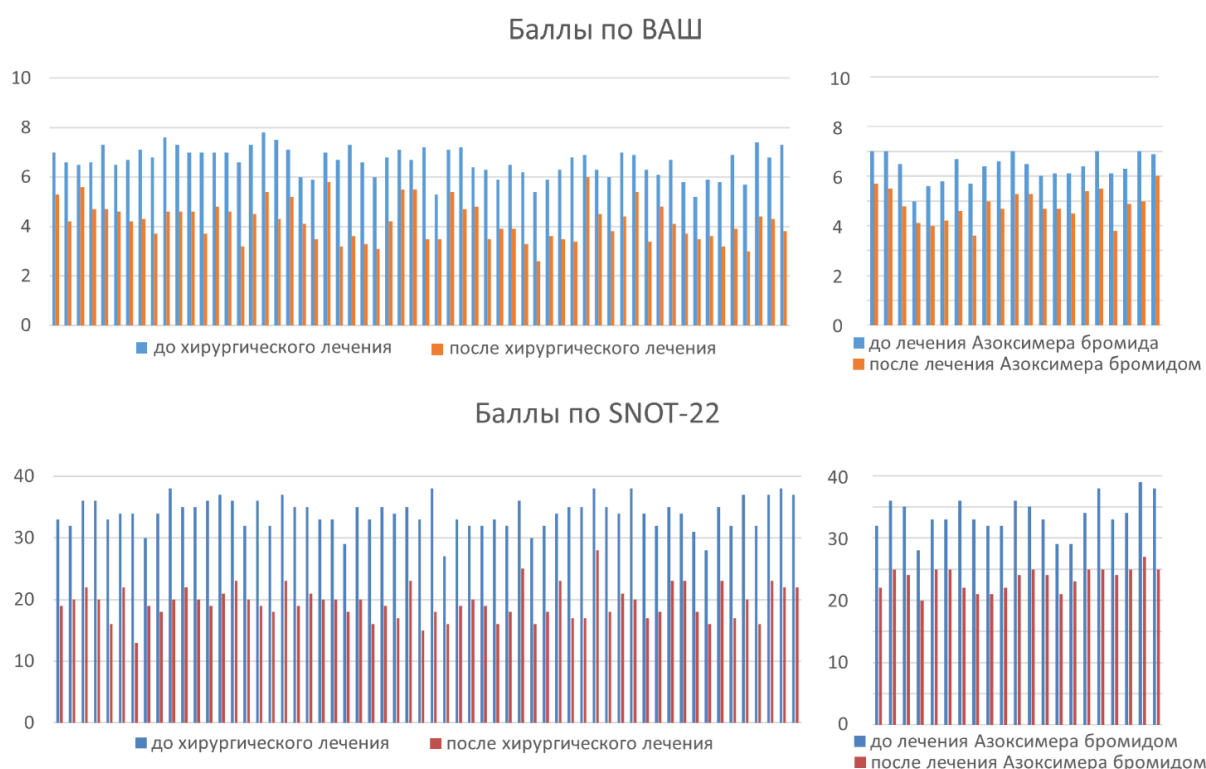


Рисунок 10 – Динамика показателей эффективности и сравнение силы эффекта в исследуемых группах

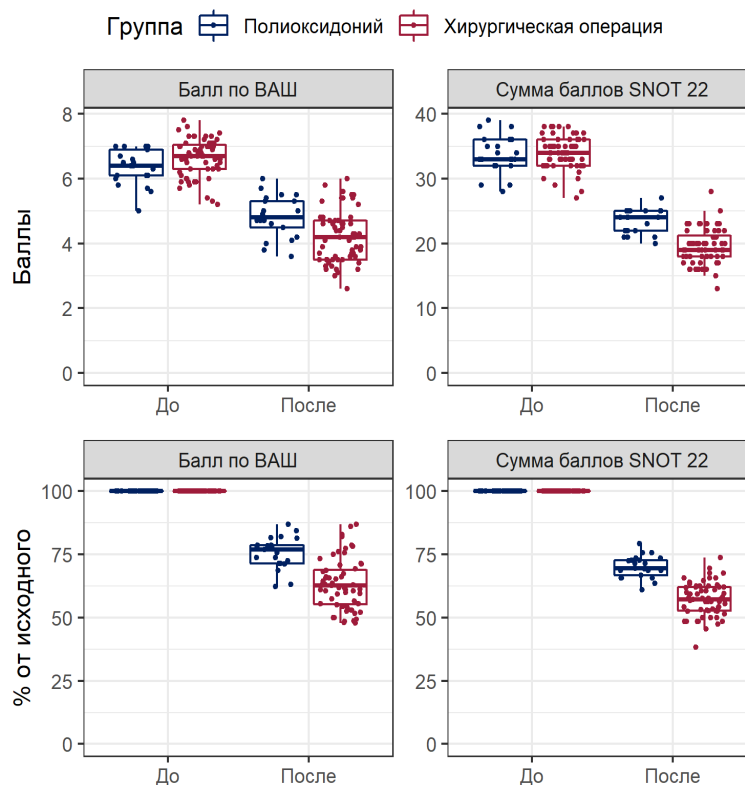


Рисунок 11 – Динамика показателей эффективности и сравнение силы эффекта в исследуемых группах

Анализ проведенного лечения показал наличие статистически значимых изменений в виде снижения баллов ВАШ, совокупной суммы баллов SNOT-22 и по всем доменам в отдельности ($p < 0.001$), вне зависимости от метода лечения (Таблица 9). В течение 3х месяцев после проведенного лечения в исследуемых группах обострений ХРС не наблюдалось.

Анализ опросников показал, что хирургическое вмешательство имеет более выраженный положительный эффект по совокупной сумме баллов ВАШ и SNOT-22 ($p < 0.001$), в том числе в отдельных подгруппах «Ринологические симптомы», «Экстраназальные симптомы», «Ушные/лицевые симптомы», по сравнению с результатами консервативного лечения ($p < 0.05$) (Таблица 10, Рисунок 12). По доменам «Психологическая дисфункция», «Дисфункция сна» разницы в выраженности эффекта в зависимости от метода лечения не определялось. (Таблица 10).

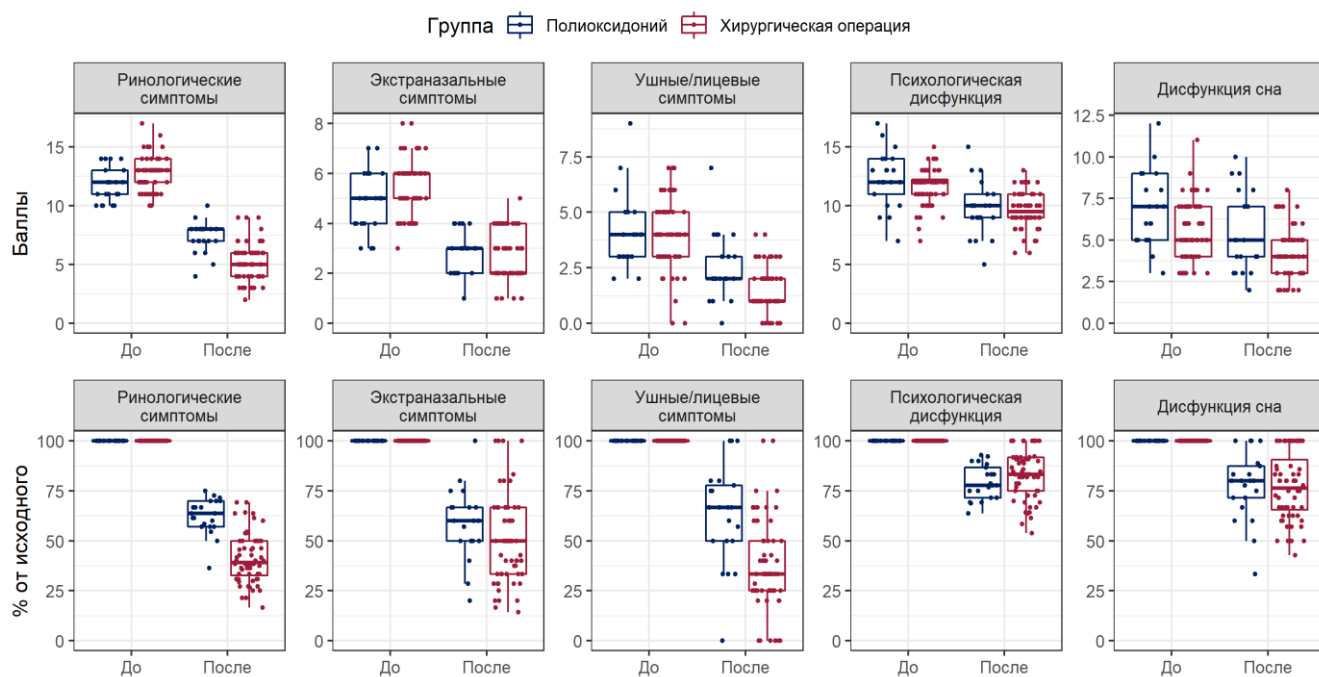


Рисунок 12 – Динамика выраженности симптомов по доменам опросника SNOT 22 и сравнение силы эффекта в исследуемых группах

Таблица 10 – Сравнение изменения баллов по ВАШ и опроснику SNOT 22 в зависимости от метода лечения (межгрупповое сравнение изменений)

Параметр	Динамика изменений в баллах		
	Азоксимера бромид, N = 21 ¹	Хирургическое вмешательство, N = 60 ¹	p-value ²
Балл по ВАШ	-1.5 (-1.7, -1.3)	-2.5 (-2.9, -1.9)	<0.001
Сумма баллов SNOT 22	-10 (-12, -9)	-14 (-17, -13)	<0.001
Ринологические симптомы	-4 (-5, -4)	-8 (-9, -6)	<0.001
Экстраназальные симптомы	-2 (-3, -1)	-3 (-4, -2)	0.030
Ушные/лицевые симптомы	-2 (-2, -1)	-2 (-3, -2)	0.001
Психологическая дисфункция	-2 (-3, -2)	-2 (-3, -1)	0.10
Дисфункция сна	-1 (-2, -1)	-1 (-2, -1)	0.6

¹ Медиана (межквартильный интервал)

² Критерий Манна-Уитни

Резюме

Таким образом, оценка связи между проведенным лечением и динамикой изменения баллов по ВАШ и SNOT-22 показала положительные результаты в виде снижения влияния ХРС на качество жизни через 3 месяца, вне зависимости от вида лечения. Хирургическое лечение показало более ощутимое положительное влияние на качество жизни пациентов с ХРС по сравнению с лечением, направленным на снижение воспалительных изменений, ассоциированных с повышенным количеством НВЛ. После повторного опроса пациентов через 3 месяца, дальнейшее наблюдение не продолжалось.

Результаты, полученные в результате проведения опроса пациентов с ХРС без полипов вне обострения, показали, что интраназальное назначение Азоксимера бромида может быть оправдано в качестве временной альтернативы хирургическому лечению. Возможно также назначение иммунокорректирующей терапии в предоперационном периоде, что требует дальнейшего изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нейтрофильные внеклеточные ловушки являются важной частью иммунного ответа и играют значимую роль в течении воспалительных процессов при многих заболеваниях. Открытые ранее механизмы НЕТоза обеспечивают не только прямое уничтожение патогена, но и повышают эффективность иммунного ответа. В проведенной работе была показана роль НВЛ в воспалительных процессах при ХРС.

Повышение количества НВЛ в смывах, сыворотке крови и гистологическом материале у пациентов с ХРС подтверждает непосредственное участие процессов НЕТоза в воспалительных процессах при этой патологии. Можно предположить, что в поддержании стойких воспалительных изменений слизистой оболочки играет роль не только избыточное образование НВЛ, обеспечивающее защиту от чужеродных агентов, но и нарушение процессов деградации остатков НВЛ, обладающих провоспалительными эффектами [6, 48, 54]. Обнаружение повышения количества маркеров НВЛ (комплексов МПО-ДНК и внеклеточной дсДНК) в венозной крови у пациентов с ХРС без полипов по сравнению со здоровыми людьми говорит о наличии системного влияния этого заболевания на организм даже вне обострения болезни и является уникальным открытием исследовательской работы.

Расположение НВЛ в стромальных слоях биоптата при ХРС без полипов может говорить о том, что НЕТоз при этом типе риносинусита не является исключительно реакцией на бактериальную инвазию (что, вероятно, способствовало бы более поверхностному распространению нетотических нейтрофилов и НВЛ).

Результаты проведенного лечения показали, что назначение иммунокорректирующей терапии, влияющей на количество НВЛ, улучшает клиническую картину заболевания, но не приводит к полному купированию воспалительных изменений. Исходя из этого, можно предположить, что избыточное образование НВЛ может усугублять симптомы и тяжесть ХРС, но при этом внеклеточные ловушки не являются единственным фактором патогенеза,

устранение которого способно привести к полному выздоровлению пациента. Таким образом, ХРС можно рассматривать как мультифакторное заболевание со сложным патогенезом, которое требует комплексного исследования и подхода.

Результаты анализа смывов, крови, гистологического материала и опросников, которые были получены в представленной исследовательской работе, говорят о высокой потенциальной пользе использования Азоксимера бромиды для подавления избыточных процессов НЕТоза. Дальнейшее изучение влияния на процессы образования внеклеточных ловушек является перспективным направлением исследования и может расширить возможности консервативного лечения ХРС без полипов, особенно в условиях отсутствия применения хирургического лечения.

ВЫВОДЫ

1. Медиана и межквартильный интервал оптической плотности при использовании ИФА для оценки нейтрофильных внеклеточных ловушек у пациентов с ХРС путем определения комплексов МПО-ДНК составила в сыворотке венозной крови 1.37 [1.11, 1.62], в назальных смывах 0.82 [0.59, 0.93]. У контрольной группы без ХРС эти показатели составили 0.95 [0.59, 1.26] и 0.14 [0.09, 0.31] соответственно. Медиана и межквартильный интервал оптической плотности при использовании ИФА у пациентов с ХРС для оценки нейтрофильных внеклеточных ловушек путем определения количества внеклеточной двуспиральной ДНК в периферической венозной крови составила 128 [99, 145], в назальных смывах 31 [18, 45]. У контрольной группы без ХРС эти показатели составили 92 [80, 115], в назальных смывах 11 [5, 20] соответственно. У пациентов с ХРС количество НВЛ в назальных смывах и венозной крови достоверно выше по сравнению с контрольной группой без ХРС ($p < 0,05$), что было оценено методом ИФА комплексов МПО-ДНК и определением и дсДНК.

2. Медиана и межквартильный интервал количества НВЛ и нетотических нейтрофилов при ручном подсчете в образцах парафиновых срезов слизистой оболочки околоносовых пазух у пациентов без ХРС составила 1 [0;3]. У пациентов с ХРС эти показатели составили 49,5 [44;55] соответственно. Количество нетотических нейтрофилов и нейтрофильные внеклеточные ловушки в гистологическом материале пациентов с ХРС выше, чем у пациентов без риносинусита ($p < 0.001$). Нейтрофильные внеклеточные ловушки и нетотические нейтрофилы у пациентов с ХРС определяются преимущественно в строме.

3. Медиана и межквартильный интервал оптической плотности при использовании ИФА для оценки нейтрофильных внеклеточных ловушек у пациентов с ХРС после курса лечения Азоксимера Бромидом путем определения комплексов МПО-ДНК составила в сыворотке венозной крови 0.60 [0.51, 0.89], в назальных смывах 0.12 [0.07, 0.35]. Медиана и межквартильный интервал оптической плотности при использовании ИФА для оценки нейтрофильных

внеклеточных ловушек у пациентов с ХРС после курса лечения Азоксимера Бромидом путем определения количества внеклеточной двуспиральной ДНК в периферической венозной крови составила 81 [73, 99], в назальных смывах 19 [14, 24]. Применение Азоксимера бромида при ХРС вне обострения способно снижать интенсивность воспалительных изменений, ассоциированных с процессом НЕТоза при интраназальном применении препарата не только в области воспаления (снижение НВЛ в назальном смыве), но и на уровне организма (снижение НВЛ в венозной крови) ($p < 0,05$).

4. В исследуемых группах (после хирургического лечения и курса лечения Азоксимера бромидом) влияние симптомов ХРС на качество жизни достоверно снижалось после лечения по результатам оценки ВАШ и опросника SNOT-22 (сумма баллов и по каждому домену в отдельности) через 3 месяца после проведенной терапии ($p < 0.001$). Назначение Азоксимера бромида при лечении ХРС без полипов вне обострения положительно влияет на качество жизни в течение 3 месяцев и может быть рассмотрено как альтернатива хирургического вмешательства, несмотря на меньшую выраженность эффекта.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

У пациентов с ХРС без полипов при продолжительном средне-тяжелом и тяжелом течении болезни может быть рекомендована оценка НВЛ методом ИФА (с количественным определением комплексов МПО-ДНК и дсДНК) в назальных смывах, полученных при проведении лечебно-диагностической пункции вне обострения.

Изучение гистологического материала методом ИГХ у пациентов с ХРС, полученным из области воспаления, позволяет оценить интенсивность воспалительного процесса в слизистой оболочке пациента с определением показаний к иммуннокорректирующей терапии Азоксимера бромидом.

Назначение Азоксимера бромида в предоперационном периоде, а также в качестве альтернативы хирургическому лечению может снижать проявления ХРС, обусловленные воспалительными изменениями, ассоциированными с НВЛ. Интраназальное применение препарата в суточной дозировке 6 мг/мл при ХРС способно оказывать системное влияние.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода;

ВАШ – визуально-аналоговая шкала;

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;

дсДНК – двуспиральная дезоксирибонуклеиновая кислота;

ИГХ - иммуногистохимический анализ

КТ – компьютерная томография;

МПО – миелопероксидаза.

H2B – гистон H2B;

НВЛ – нейтрофильные внеклеточные ловушки;

НЕТоз – процесс образования нейтрофильных внеклеточных ловушек;

НЭ - нейтрофильная эластаза;

ХРС – хронический риносинусит;

ЭТоз – процесс образования эозинофильных внеклеточных ловушек;

SNOT - Sino-Nasal Outcome Test;

TBS - Трис-буферный физиологический раствор;

TE (Tris EDTA buffer) – Трис-ЭДТА буферный раствор.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болевой синдром при заболеваниях носа и околоносовых пазух / А.И. Крюков, Г.Ю. Царапкин, С.А. Панасов, А.Е. Кишиневский // Российская ринология. – 2018. – Т. 26. – №2. – С. 5-21.
2. Булгакова, В.А. Иммуномодуляторы для профилактики и лечения острых респираторных инфекций: эффективность азоксимера бромиды / В.А. Булгакова // Терапевтический архив. – 2014. – Т. 86. – № 12. – С. 92-97.
3. Влияние азоксимера бромиды на формирование внеклеточных нейтрофильных ловушек / Б.В. Пинегин, Ю.А. Дагиль, Н.В. Воробьева, М.В. Пащенко // РМЖ. – 2019. – № 1. – С. 42-46.
4. Влияние полиоксидония на фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови человека / С.В. Дамбаева, Д.В. Мазуров, Н.М. Голубева, [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2003. – Т. 8. – № 1. – С. 53-60.
5. Внеклеточные ловушки как важная часть патогенеза при хроническом риносинусите / В.М. Свистушкин, Г.Н. Никифорова, Н.В. Воробьева, А.С. Деханов // Consilium Medicum. – 2021. – Т. 23. – №9. – С. 395-399.
6. Возможности антибактериальной терапии затянувшихся и рецидивирующих форм риногенного синусита, а также синусита с наличием коморбидного фона. / А. И. Крюков, Н. Л. Кунельская, А. В. Гуров, Г. Н. Изотова, М. А. Юшкина, О. А. Киселева // Медицинский совет. – 2016. – №6. – С. 12-17.
7. Возрастные особенности течения острого и хронического риносинусита / С.В. Рязанцев, И.М. Кириченко, Е.Л. Савлевич, В.И. Попадюк, Н.С. Козлова, А.И. Чернолев // Вестник оториноларингологии. – 2024; - Т. 89. – №1. – С. 64-72.
8. Воробьева, Н.В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы формирования и роль в здоровье и патологии / Н.В. Воробьева, Б.В. Пинегин // Биохимия (Москва). – Т. 79. – № 12. – С. 1286-1296.
9. Воробьева, Н.В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: новые аспекты / Н.В. Воробьева // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология – 2020. – Т. 75. – № 4. – С. 210-225.

10. Воробьева, Н.В. НЕТоз: молекулярные механизмы, роль в физиологии и патологии / Н.В. Воробьева, Б.В. Черняк // БИОХИМИЯ. – 2020. – Т. 85. – № 10. С. 1383-1397.
11. Динамические показатели применения пункционного метода лечения острого верхнечелюстного синусита в учреждениях здравоохранения города Москвы. / А.И. Крюков, А.С. Товмасын, М.Г. Тимофеева, А.В. Артемьева-Карелова, А.Я. Болгар, А.Е. Кишиневский // Вестник оториноларингологии. – 2023. – Т. 88. – №.5. – С.41-48.
12. Долгушин, И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки в борьбе с биопленкообразующими микроорганизмами: охотники или добыча? / И.И. Долгушин, Е.А. Мезенцева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2020. – Т. 97. – № 5. – С. 468-481.
13. Иванченко, О.А. Хронический риносинусит: эпидемиология, классификация, этиология, патогенез. Современный взгляд на проблему / О.А. Иванченко, А.С. Лопатин // Вестник оториноларингологии. – 2012. – Т. 77. – № 2. – С. 91-96.
14. Иммуномодулирующее средство Полиоксидоний для лечения острых респираторных инфекций у детей / Ф.С. Харламова, В.Ф. Учайкин, Л.В Кузьменко [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2013. – № 11. – С. 12-20.
15. История хирургии лобной пазухи и современный взгляд на проблему. Часть 2 / К.Э. Клименко, А.И. Крюков, Ю.Ю. Русецкий, А.С. Товмасын, С.Е. Кудряшов // Вестник оториноларингологии. – 2023. – Т.88. № 5. – С. 76-81.
16. Караулов, В.А. Применение азоксимера бромиды в терапии инфекционно-воспалительных заболеваний органов дыхания у детей: мета-анализ контролируемых клинических исследований / А.В. Караулов, А.В. Горелов // Журнал инфектологии. – 2019. – Т. 11. – № 4. – С. 31-41.
17. Клиническая иммунология / В.А. Козлов, А.А. Савченко, И.В. Кудрявцев, И.Г. Козлов, Д.А. Кудлай, А.П. Продеус, А.Г. Борисов. – Красноярск: Поликор, 2020. – 386 с.

18. Комплексный подход в консервативном лечении хронического тонзиллита / А. Ю. Курбанова, В. И. Егоров, И. А. Василенко, Г. А. Голубовский, Д. В. Кассина // Российская оториноларингология. – 2023. – Т. 22. – №6. – С. 62-72.
19. Косяков, С.Я. Хирургическое лечение хронического риносинусита. Аналитический обзор / С.Я. Косяков, Е.В. Пчеленок // Российская ринология. – 2013. – Т. 21. - № 4. – С. 30-33.
20. Крюков, А.И. Синусит в опыте врача общей практики / А.И. Крюков, А.Б. Туровский, Ю.В. Талалайко // РМЖ. – 2010. – С. 7- 435.
21. Литвицкий, П.Ф. Врожденный иммунитет: механизмы реализации и патологические синдромы / П.Ф. Литвицкий, Т.Г. Синельникова // ВСП. – 2009. – №1.
22. Маланичева, Т.Г. Эффективность иммуномодулирующей терапии внебольничной пневмонии у часто болеющих детей / Т.Г. Маланичева, Е.В. Агафонова // Детские инфекции. – 2018. – Т. 17. – № 4. – С. 38-42.
23. Матосова, Е.В. Антимикробные механизмы нейтрофилов как перспективные мишени для фармакологической модуляции неспецифической защиты организма / Е.В. Матосова, Б.Г. Андрюков // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2019. – Т. 95. – № 3. – С 96-105.
24. Местная цитокиновая терапия воспаления риносинусотубарной зоны / Е.Б. Катинас, Г.В. Лавренова, Е.Ю. Глухова, Л.Р. Кучерова // Вестник Оториноларингологии. – 2016. – Т. 81. – № 4. – С.45-49.
25. Моисеева, Ю.П. Динамическое наблюдение за больными полипозным риносинуситом / Ю.П. Моисеева, Г.З. Пискунов // Вестник Оториноларингологии. – 2020. – Т. 85. – № 2. – С. 58-62.
26. Нейтрофильные внеклеточные ловушки в слизистой оболочке околоносовых пазух у пациентов с хроническим риносинуситом без полипов / В.М. Свистушкин, Г.Н. Никифорова, А.С. Деханов, Ю.А. Дагиль, Ю.А. Второва, Н.А. Гусева, Н.В. Воробьева, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2024. –Т.45. – №.6. – С. 731-741.

27. Нейтрофильные внеклеточные ловушки в патогенезе хронического риносинусита / В.М. Свистушкин, Г.Н. Никифорова, Н.В. Воробьева [и др.] // Вестник оториноларингологии. – 2021. – Т. 86. – № 6. – С.105-112.
28. Нейтрофильные внеклеточные ловушки как важная часть патогенеза хронического риносинусита без полипов / В.М. Свистушкин, Г.Н. Никифорова, Б.В. Пинегин, Н.В. Воробьева, А.С. Деханов, Ю.А. Дагиль, А.Р. Миронова // Consilium Medicum. – 2024. Т – 26. –№9. – С. 587-594.
29. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: структура и биологическая роль / И.А. Одинцова, О.Е. Миргородская, С.Э. Русакова, А.В. Горбулич, В.Г. Гололобов. // Гены и клетки. – 2022. – Т. 17. – №4. – С. 63-74.
30. Нетоз при волчаночном нефрите / Т.М. Решетняк, К.С. Нурбаева, И.В. Пташник, А.А. Кудряева, А.А. Белогуров, А.М. Лиля, Е.Л. Насонов // Терапевтический архив. – 2024. – Т. 96. – №5. – С. 453-458.
31. Новый взгляд на лечение полипозного риносинусита / И.Б. Попов, Д.А. Щербаков, О.Б. Тырык, Т.А. Алексанян // Вестник Оториноларингологии. – 2020. – Т. 85. – № 3. – С. 48-51.
32. Обзор международных опросников и анкет оценки качества жизни при остром и хроническом риносинусите / С.А. Горбунов, Ю.Ю. Русецкий, С.Е. Кудряшов, [и др.] // Российская ринология. – 2021. – Т. 29. – № 2. – С. 97-106.
33. Оценка эффективности комплексного лечения хронических синуситов у жителей высокогорья / К.К. Нарматова, Д.А. Мактыбаева, Э.С. Кулиева, Т.М. Закиров // Alato Academic Studies. – 2022. – Т. 22. – № 1. – С. 396-404.
34. Пальчун, В.Т. Оториноларингология / под редакцией В.Т. Пальчуна; – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 1024 с.
35. Полиоксидоний: механизм действия и клиническое применение / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, А.В. Некрасов [и др.] // Медицинская иммунология. – 2000. – Т. 2. – № 3. – С. 271-278.
36. Применение отечественного иммуномодулятора Полиоксидония в практике лечения детей с патологией лимфоглоточного кольца / В.П. Вавилова, Н.К.

- Первощикова, А.А. Ризо, С.А. Павленко, Т.В. Филиппова, Т.Ю. Милькова, Л.А. Августан // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2005. – Т.1. – №4. – С.47-53.
37. Распространенность и структура заболеваний носа и околоносовых пазух среди взрослого населения мегаполиса / А.И. Крюков, Г.Ю. Царапкин, С.Г. Романенко, А.С. Товмасян, С.А. Панасов // Российская ринология. – 2017. – Т.25. – №1. – С. 3-6.
38. Роль иммуномодулирующей терапии в общеклинической практике / Л.В. Лусс, А.В. Некрасов, Н.Г. Пучкова [и др.] // Иммунология. – 2000. – № 5. – С. 34-38.
39. Российская Федерация. Министерство здравоохранения. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) – Версия 15 (22.02.2022) URL: https://static0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf (дата обращения: 08.01.2025).
40. Сравнительная оценка влияния азоксимера бромида и хирургического лечения на качество жизни пациентов с хроническим риносинуситом без полипов / В.М. Свистушкин, Г.Н. Никифорова, А.С. Деханов, А.Н. Никифорова // Вестник оториноларингологии. – 2024. – Т. 89. – № 2. – С.46-51.
41. Унификация оценки результатов ринохирургического лечения с позиции пациента / А.Е. Кишиневский, Г.Ю. Царапкин, А.С. Товмасян, Н.В. Шведов, И.Г. Колбанова, М.Ю. Поляева, В.В. Мосин // Российская ринология. – 2021. – Т. 29. е– № 4. – С. 207–215.
42. Ушкалова, Е.А. Интраназальные глюкокортикостероиды в терапии риносинусита: фокус на мометазона фуроат / Е.А. Ушкалова, С.К. Зырянов, Г.Я. Шварц // Вестник Оториноларингологии. – 2016. – Т. 81. – № 5. – С. 59-66.
43. Харит, С.М. Азоксимера бромид – безопасный и эффективный препарат при лечении острых респираторных инфекций верхних дыхательных путей у детей: обзор результатов двойных слепых плацебо-контролируемых рандомизированных клинических исследований II и III фазы / С.М. Харит, А.Н. Галустян // Consilium Medicum. Педиатрия. – 2017. – № 2. – С. 55-61.

44. Хронический риносинусит: патогенез, диагностика и принципы лечения (клинические рекомендации) / Н.А. Арефьева, В.В. Вишняков, О.А. Иванченко [и др.]; под редакцией А.С. Лопатина. – Москва: Практическая медицина, 2014. – 64 с.
45. Цитокиновый профиль хронического риносинусита без полипов. / О.В. Кокорина, В.И. Боева, С.В. Апалько, Д.А. Вологжанин, В.В. Дворянчиков, С.Г. Щербак // Вестник оториноларингологии. – 2022. –Т. 87. – №4. –С. 51-55.
46. Эпидемиология хронических риносинуситов / П.А. Шамкина, А.А. Кривопапов, С.В. Рязанцев [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 3.
47. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of macrolide in the treatment of chronic rhinosinusitis / B. Wallwork, W. Coman, A. Mackay-Sim, [et al.] // The Laryngoscope. – 2006. – Vol. 116. – № 2. – P. 189-193.
48. A substantial neutrophilic inflammation as regular part of severe type 2 chronic rhinosinusitis with nasal polyps / T. Delemarre, G. Holtappels, N. De Ruyck, [et al.] // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2021. – Vol. 147. – № 1. – P. 179-188.
49. Age-related decline of neutrophilic inflammation is associated with better postoperative prognosis in non-eosinophilic nasal polyps / D.W. Kim, D.K. Kim, A. Jo, [et al.] // PLoS One. – 2016. – Vol. 11. – № 2. – P. 1-12.
50. Allen, J.E. Crystal-clear treatment for allergic disease / J.E. Allen, T.E. Sutherland // Science. – 2019. – Vol. 364. – № 6442. – P. 738-739.
51. Assessing quality of life and burden of disease in chronic rhinosinusitis: a review / D. Klonaris, M. Doulaptsi, A. Karatzanis, [et al.] // Rhinology Online. – 2019. – Vol 2. – P. 6-13.
52. Bacterial flora in normal adult maxillary sinuses / W. Abou-Hamad, N. Matar, M. Elias, [et al.] // The American Journal of Rhinology & Allergy. – 2009. – Vol. 23. – № 3. – P. 261-263.
53. Bai, J. Endotypic heterogeneity and pathogenesis in chronic rhinosinusitis / J. Bai, B. K. Tan, A. Kato // Current opinion in allergy and clinical immunology. – 2024. – Vol. 24. – №1. – P.1-8.

54. Barrier function of the nasal mucosa in health and type-2 biased airway diseases / N. Zhang, K. Van Crombruggen, E. Gevaert, [et al.] // *Allergy*. – 2016. – Vol. 71. – № 3. – P. 295-307.
55. Beule, A. Epidemiology of chronic rhinosinusitis, selected risk factors, comorbidities, and economic burden/ A.Beule // *GMS Current Topics Otorhinolaryngology - Head Neck Surgery*. – 2015. – Vol. 14. – Doc. 11. – P. 1-31.
56. Branzk, N. Molecular mechanisms regulating NETosis in infection and disease / N. Branzk, V. Papayannopoulos // *Seminars in immunopathology*. – 2013. – Vol. 35. – № 4. – P. 513-530.
57. Brook, I. Bacteriology of chronic sinusitis and acute exacerbation of chronic sinusitis / I. Brook // *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. – 2006. – Vol. 132. – № 10. – P. 1099-1101.
58. Capsule and D-alanylated lipoteichoic acids protect *Streptococcus pneumoniae* against neutrophil extracellular traps / F. Wartha, K. Beiter, B. Albiger, [et al.] // *Cellular microbiology*. – 2007. – Vol. 9. – № 5. – P. 1162-1171.
59. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense / S. Yousefi, J.A. Gold, N. Andina, [et al.] // *Nature medicine*. – 2008. – Vol. 14. – № 9. – P. 949-953.
60. Chaikijurajai, T. Myeloperoxidase: a potential therapeutic target for coronary artery disease / T. Chaikijurajai, W.H.W. Tang // *Expert opinion on therapeutic targets*. – 2020. – Vol. 24. – № 7. – P. 695-705.
61. Chronic rhinosinusitis in Asia / Y. Zhang, E. Gevaert, H. Lou, [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2017. – Vol. 140. – № 5. – P.1230-1239.
62. Chronic rhinosinusitis in Europe-an underestimated disease. A GALEN study / D. Hastan, W.J. Fokkens, C. Bachert, [et al.] // *Allergy*. – 2011. – Vol. 66. – № 9. – P. 1216-1223.
63. Circulating H3Cit is elevated in a human model of endotoxemia and can be detected bound to microvesicles / S.P. Göranson, C. Thålin, A. Lundström, [et al.] // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P.1-7.

64. Circulating histones are mediators of trauma-associated lung injury / S.T. Abrams, N. Zhang, J. Manson, [et al.] // American journal of respiratory and critical care medicine. – 2013. – Vol. 187. – № 2. – P. 160-169.
65. Classification of chronic rhinosinusitis according to a nasal polyp and tissue eosinophilia: limitation of current classification system for Asian population / S.W. Cho, D.W. Kim, J.W. Kim, [et al.] // Asia Pacific allergy. – 2017. – Vol. 7. – № 3. – P. 121-130.
66. Clinical practice guideline (update): adult sinusitis / R.M. Rosenfeld, J.F. Piccirillo, S.S.Chandrasekhar, [et al.] // Otolaryngology – head and neck surgery. – 2015. – Vol. 152. – № S2. – P. 1–39.
67. Clustering of chronic rhinosinusitis symptomatology reveals novel associations with objective clinical and demographic characteristics / A.R. Sedaghat, S.T. Gray, S.D. Caradonna, [et al.] // American journal of rhinology & allergy. – 2015. – Vol. 29. – № 2. – P. 100-105.
68. Colchicine Inhibits NETs and Alleviates Cardiac Remodeling after Acute Myocardial Infarction / Y.W. Li, S.X. Chen, Y. Yang, [et al.] // Cardiovasc Drugs Ther. – 2024. – Vol. 38. – № 1. – P. 31-41.
69. Cook, H.E. Bacteriology of the maxillary sinus / H.E. Cook, J. Haber // Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. – 1987. – Vol. 45. – № 12. – P. 1011-1014.
70. Cortjens, B. Neutrophil Extracellular Traps in Respiratory Disease: guided anti-microbial traps or toxic webs? / B. Cortjens, J.B. van Woensel, R.A. Bem // Paediatric Respiratory Reviews. – 2017. – Vol. 21. – P. 54-61.
71. CXCL-8-dependent and -independent neutrophil activation in COPD: experiences from a pilot study of the CXCR2 antagonist danirixin / H.R. Keir, H. Richardson, C. Fillmore, [et al.] // ERJ open research. – 2020. – Vol. 6. – № 4. – P. 1-4.
72. CXCR2 antagonist for patients with chronic obstructive pulmonary disease with chronic mucus hypersecretion: a phase 2b trial / A.L. Lazaar, B.E. Miller, A.C. Donald, [et al.] // Respiratory research. – 2020. – Vol. 21. – № 149. – P. 1-10.

73. Damage associated molecular pattern-activated neutrophil extracellular trap exacerbates sterile inflammatory liver injury / H. Huang, S. Tohme, A.B. Al-Khafaji, [et al.] // *Hepatology*. – 2015. – Vol. 62. – № 2. – P. 600-614.
74. Damage to ciliated epithelium in chronic rhinosinusitis: what is the role of bacterial biofilms / J. Galli, L. Calò, F. Ardito, [et al.] // *Annals of Otolaryngology & Laryngology*. – 2008. – Vol. 117. – № 12. – P. 902-928.
75. Danirixin: A Reversible and Selective Antagonist of the CXC Chemokine Receptor 2 / J. Busch-Petersen, D.C. Carpenter, M. Burman, [et al.] // *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. – 2017. – Vol. 362. – № 2. – P. 338-346.
76. Delgado-Rizo, V. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: an overview / V. Delgado-Rizo, M.A. Martínez-Guzmán, L. Iniguez-Gutierrez // *Frontiers in immunology*. – 2017. – Vol. 8. – № 81. – P. 1-20.
77. Depressed Mood Modulates Impact of Chronic Rhinosinusitis Symptoms on Quality of Life / R.G. Banoub, L.P. Hoehle, K.M. Phillips, [et al.] // *The journal of allergy and clinical immunology. In practice*. – 2018. – Vol. 6. – № 6. – P. 2098-2105.
78. Diagnostic criteria of eosinophilic otitis media, a newly recognized middle ear disease / Y. Iino, S. Tomioka-Matsutani, A. Matsubara, [et al.] // *Auris, nasus, larynx*. – 2011. – Vol. 38. – № 4. – P. 456-461.
79. Different types of T-effector cells orchestrate mucosal inflammation in chronic sinus disease / N. Zhang, T. Van Zele, C. Perez-Novo, [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2008. – Vol. 122. № 5. – P. 961-968.
80. Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators / T. Van Zele, S. Claeys, P. Gevaert, [et al.] // *Allergy*. – 2006. – Vol. 61. – № 11. – P. 1280-1289.
81. Distress Syndrome/Acute Lung Injury / X. Zhou, J. Jin, T. Lv, [et al.] // *The International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 25. – № 3. – P. 1-20.
82. Diverse Endotypes of Chronic Rhinosinusitis and Clinical Implications / X. Xie, L. Xuan, Y. Zhao, [et al.] // *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. – 2023. – Vol. 65. – № 3. – P. 420-432.

83. Donlan, R.M. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms / R.M. Donlan, J.W. Costerton // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2002. – Vol. 15. – № 2. – P. 167-193.
84. Effect of using multiple culture media for the diagnosis of noninvasive fungal sinusitis / M.M. Collins, S.B. Nair, V. Der-Haroutian, [et al.] // *American journal of rhinology*. – 2005. – Vol. 19. – № 1. – P. 41-45.
85. Effects of Neutrophil and Eosinophil Extracellular Trap Formation on Refractoriness in Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps / H. Cha, H.S. Lim, J.A. Park, [et al.] // *Allergy, Asthma & Immunology Research*. – 2023. – Vol. 15. – № 1. – P. 94-108.
86. Endotypes of chronic rhinosinusitis: Impact on management / L.O. Cardell, Pär Stjärn, K. Jonstam, [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2020. – Vol. 145. – № 3. – P. 752-756.
87. Eosinophil ETosis and DNA Traps: a New Look at Eosinophilic Inflammation. / S. Ueki, T. Tokunaga, S. Fujieda, [et al.] // *Current allergy and asthma reports*. – 2016. – Vol. 16. – № 54. – P. 1-8.
88. Eosinophil extracellular trap cell death-derived DNA traps: Their presence in secretions and functional attributes / S. Ueki, Y. Konno, M. Takeda, [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2016. – Vol. 137. – № 1. – P. 258-267.
89. Eosinophil extracellular trap formation is closely associated with disease severity in chronic rhinosinusitis regardless of nasal polyp status / C.S. Hwang, S.C. Park, H.J. Cho, [et al.] // *Scientific reports*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 1-8.
90. Epidemiology of chronic rhinosinusitis: results from a cross-sectional survey in seven Chinese cities / J.B. Shi, Q.L. Fu, H. Zhang, [et al.] // *Allergy*. – 2015. – Vol. 70. – № 5. – P. 533-539.
91. EQ-5D-derived health utility values in patients undergoing surgery for chronic rhinosinusitis / A.K. Remenschneider, G. Scangas, J.C. Meier, [et al.] // *The Laryngoscope*. – 2015. – Vol. 125. – № 5. – P. 1056-1061.
92. ETosis: A Microbicidal Mechanism beyond Cell Death / A.B. Guimarães-Costa, M.T.C. Nascimento, A.B. Wardini, [et al.] // *Journal of Parasitology Research*. – 2012. – Vol. 2012. – P. 1-11.

93. European Position Paper on Rhinosinusitis and nasal Polyps / Fokkens. W, Lund V, Bachert C, [et al.] // *Rhinology*. –2005. – Vol. 18. – P. 1-330.
94. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2020 (EPOS 2020) / W.J. Fokkens, V.J. Lund, C. Hopkins, [et al.] // *Rhinology*. – 2020. – Vol. 58. – № 29. – P. 1-464.
95. Expression of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 and 2 in patients with chronic rhinosinusitis and their possible contribution to local glucocorticoid activation in sinus mucosa / Y.J. Jun, S.J. Park, T.H. Kim, [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2014. – Vol. 134. – № 4. – P. 926-934.
96. Extracellular histones are essential effectors of C5aR- and C5L2-mediated tissue damage and inflammation in acute lung injury / M. Bosmann, J.J. Grailer, R. Ruemmler, [et al.] // *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. – 2013. – Vol. 27. – № 12. – P. 5010-5021.
97. Ferguson, B.J. Eosinophilic mucin rhinosinusitis: a distinct clinico-pathological entity / B.J. Ferguson // *Laryngoscope*. – 2000. – Vol. 110. – №5. – P. 799-813.
98. Gliklich, R.E. The health impact of chronic sinusitis in patients seeking otolaryngologic care // R.E. Gliklich, R. Metson // *Otolaryngology–head and neck surgery*. – 1995. – Vol. 113. – № 1. – P. 104-109.
99. Global burden of upper respiratory infections in 204 countries and territories, from 1990 to 2019 / X. Jin, J. Ren, R. Li, [et al.] // *EClinicalMedicine*. – 2021. – Vol. 37. – P. 1-8.
100. Host-derived extracellular nucleic acids enhance innate immune responses, induce coagulation, and prolong survival upon infection in insects / B. Altincicek, S. Stotzel, M. Wygrecka, [et al.] // *The Journal of immunology*. – 2008. – Vol. 181. – № 4. – P. 2705-2710.
101. Human gut microbiome viewed across age and geography / T. Yatsunenko, F.E. Rey, M.J. Manary, [et al.] // *Nature*. – 2012. – Vol. 486.– №7402. – P. 222-227.
102. Identification of clinically relevant chronic rhinosinusitis endotypes using cluster analysis of mucus cytokines / J.H. Turner, R.K. Chandra, P. Li, [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2018. – Vol. 141. – № 5. – P.1895-1897.

103. Inflammatory endotypes of chronic rhinosinusitis based on cluster analysis of biomarkers / P. Tomassen, G. Vandeplass, T. Van Zele, [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2016. – Vol. 137. – № 5. – P. 1449-1456. 134
104. Jenne, C.N. Virus-induced NETs-critical component of host defense or pathogenic mediator? / C.N. Jenne, P. Kubes // *PLOS Pathogens*. – 2015. – Vol. 11. – № 1. – P.1-4.
105. Jo, A. Neutrophil Extracellular Traps in Airway Diseases: Pathological Roles and Therapeutic Implications / A. Jo, D.W. Kim // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 5034.
106. Kaplan, A. Canadian guidelines for chronic rhinosinusitis: Clinical summary / A. Kaplan // *Canadian family physician. Medecin de famille canadien*. – 2013. – Vol. 59. – № 12. – P. 1275-1281.
107. Khalmuratova, R. Crosstalk Between Mucosal Inflammation and Bone Metabolism in Chronic Rhinosinusitis / R. Khalmuratova, H.W. Shin // *Clinical and experimental otorhinolaryngology*. – 2021. – Vol. 14. – № 1. – P. 43-49.
108. Kim, D.H. Effect of Chronic Rhinosinusitis With or Without Nasal Polyp on Quality of Life in South Korea: 5th Korea National Health and Nutrition Examination Survey Korean / D.H. Kim, K. Han, S.W. Kim // *Clinical and experimental otorhinolaryngology*. – 2016. – Vol. 9. – № 2. – P. 150-156.
109. Kwon, E. Chronic Sinusitis / E. Kwon, M.C. O'Rourke // *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. – 2020. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28722963> (дата обращения: 08.01.2025).
110. Lack of neutrophil elastase reduces inflammation, mucus hypersecretion, and emphysema, but not mucus obstruction, in mice with cystic fibrosis-like lung disease / S. Gehrig, J. Duerr, M. Weitnauer, [et al.] // *American journal of respiratory and critical care medicine*. – 2014. – Vol. 189. – № 9. – P. 1082-1092.
111. Liew, P. X. The Neutrophil's Role During Health and Disease / P.X. Liew, P. Kubes // *Physiological reviews*. – 2019. – Vol. 99. – № 2. – P. 1223-1248.
112. LL-37 promotes neutrophil extracellular trap formation in chronic rhinosinusitis with nasal polyps / Y. Cao, F. Chen, Y. Sun, [et al.] // *Clinical and experimental allergy*:

- journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology. – 2019. – Vol. 49. – № 7. – P. 990-999.
113. Lysophosphatidylserine induces eosinophil extracellular trap formation and degranulation: Implications in severe asthma / H.J. Kim, M.S. Sim, D.H. Lee, [et al.] // *Allergy*. – 2020. – Vol. 75. – № 12. – P. 3159-3170.
114. Mahdavinia, M. Sleep disruption in chronic rhinosinusitis / M. Mahdavinia, R.P. Schleimer, A. Keshavarzian // *Expert review of anti-infective therapy*. – 2017. – Vol. 15. – № 5. – P. 457-465.
115. Metagenomic analysis of double-stranded DNA viruses in healthy adults / K.M. Wylie, K.A. Mihindukulasuriy, Y. Zhou, [et al.] // *BMC Biology*. – 2014. – Vol. 12. – № 71. – P.1-10.
116. Michalik, M. Chronic Rhinosinusitis-Microbiological Etiology, Potential Genetic Markers, and Diagnosis / M. Michalik, B. Krawczyk // *International journal of molecular sciences*. – 2024. – Vol. 25. – № 6. – P.1-29.
117. Molecular and cellular staging for the severity of chronic rhinosinusitis / S.E. Kountakis, P. Arango, D. Bradley, [et al.] // *The Laryngoscope*. – 2004. – Vol. 114. – № 11. – P. 1895-1905.
118. Multidimensional endotypes of chronic rhinosinusitis and their association with treatment outcomes / B. Liao, J.X. Liu, Z.Y. Li, [et al.] // *Allergy*. – 2018. – Vol. 73. – № 7. – P. 1459-1469.
119. NETosis markers: Quest for specific, objective, and quantitative markers / S. Masuda, D. Nakazawa, H. Shida, [et al.] // *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. – 2016. – Vol. 459, - P.89–93.
120. Neutrophil extracellular traps and bacterial biofilms in middle ear effusion of children with recurrent acute otitis media - a potential treatment target / R.B. Thornton, S.P. Wiertsema, L.A. Kirkham, [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – № 2. – P. 1-10.
121. Neutrophil extracellular traps are downregulated by glucocorticoids in lungs in an equine model of asthma / A. Vargas, R. Boivin, P. Cano, [et al.] // *Respiratory research*. – 2017. – Vol. 18. – № 1. – P. 207.

122. Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against *Candida albicans* / C.F. Urban, D. Ermert, M. Schmid, [et al.] // *PLOS Pathogens*. – 2009. – Vol. 5. – № 10. P. 1-18.
123. Neutrophil Extracellular Traps DNase Balance and Autoimmunity / A. Angeletti, S. Volpi, M. Bruschi, [et al.] // *Cells*. – 2021. – Vol. 10. – P. 1-8.
124. Neutrophil extracellular traps in nasal secretions of patients with stable and exacerbated chronic rhinosinusitis and their contribution to induce chemokine secretion and strengthen the epithelial barrier / J.W. Hwang, J.H. Kim, H.J. Kim, [et al.] // *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. – 2019. – Vol. 49. – № 10. – P. 1306-1320.
125. Neutrophil extracellular traps kill bacteria / V. Brinkmann, U. Reichard, C. Goosmann, [et al.] // *Science*. – 2004. – Vol. 303. – № 5663. – P. 1532-1535.
126. Neutrophil extracellular traps promote Δ Np63⁺ basal cell hyperplasia in chronic rhinosinusitis / S. Lim, R. Khalmuratova, Y.Y. Lee, [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2024. – Vol. 153. – № 3. – P. 705-717.
127. Neutrophils are a major source of the epithelial barrier disrupting cytokine oncostatin M in patients with mucosal airways disease / K.L. Pothoven, J.E. Norton, L.A. Suh, [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2017. – Vol. 139. – № 6. – P. 1966-1978.
128. Neutrophils sense microbe size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens / N. Branzk, A. Lubojemska, S.E. Hardison, [et al.] // *Nature immunology*. – 2014. – Vol. 15. – № 11. – P. 1017-1025.
129. Pantanowitz, L. Charcot-Leyden crystals: pathology and diagnostic utility / L. Pantanowitz, K. Balogh // *Ear, Nose & Throat Journal*. – 2004. – Vol. 83. – № 7. – P. 489-490.
130. Papayannopoulos, V. Neutrophil elastase enhances sputum solubilization in cystic fibrosis patients receiving DNase therapy / V. Papayannopoulos, D. Staab, A. Zychlinsky // *PloS one*. – 2011. – Vol. 6. – № 12. – P. 1-7.
131. Peterson, C.L. Histones and histone modifications / C.L. Peterson, M.A. Laniel // *Current biology : CB*. – 2004. – Vol. 14. – № 14. – P. 546-551.

132. Prevalence of chronic rhinosinusitis in the general population based on sinus radiology and symptomatology / D. Dietz de Loos, E.S. Lourijssen, M.A.M. Wildeman, [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2019. – Vol. 143. – № 3. – P. 1207-1214.
133. Prevalence of otolaryngologic diseases in South Korea: data from the Korea national health and nutrition examination survey 2008 / Y.S. Cho, S. H. Choi, K. H. Park, [et al.] // *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*. – 2010. – Vol. 3. – № 4. – P. 183-193.
134. Psaltis, A.J. Therapy of sinonasal microbiome in CRS: a critical approach / A.J. Psaltis, P.J. Wormald // *Current Allergy and Asthma Reports*. – 2017. – Vol. 17.– № 9. – P. 1-8.
135. Psychometric validity of the 22-item Sinonasal Outcome Test / C. Hopkins, S. Gillett, R. Slack,[et al.] // *Clinical Otolaryngology*. – 2009. – Vol. 34. – № 5. – P. 447-454.
136. Radiologic sinus inflammation and symptoms of chronic rhinosinusitis in a population-based sample / A.G. Hirsch, C. Nordberg, K. Bandeen-Roche, [et al.] // *Allergy*. – 2020. – Vol. 75. – № 4. – P. 911-920.
137. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis / H. Takei, A. Araki, H. Watanabe, [et al.] // *Journal of leukocyte biology*. – 1996. – Vol. 59. – № 2. – P. 229-240.
138. Reactive oxygen species are involved in eosinophil extracellular traps release and in airway inflammation in asthma / J.S. Silveira, G.L. Antunes, D.B. Kaiber, [et al.] // *Journal of cellular physiology*. – 2019. – Vol. 234. – № 12. – P. 23633-23646.
139. Regulation of neutrophil extracellular trap formation by anti-inflammatory drugs / M.J. Lapponi, A. Carestia, V.I. Landoni, [et al.] // *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. – 2013. – Vol. 345. – № 3. – P. 430-437.
140. Reliability of EP3OS symptom criteria and nasal endoscopy in the assessment of chronic rhinosinusitis – a GA² LEN study / P. Tomassen, R.B. Newson, R. Hoffmans,[et al.] // *Allergy*. – 2011. – Vol. 66. – № 4. – P. 556-561.

141. Respiratory viral infection in the chronic persistent phase of chronic rhinosinusitis / B. Liao, C.Y. Hu, T. Liu, [et al.] // *Laryngoscope*. – 2014. – Vol. 124. – № 4. – P. 832-837.
142. Richards, C.D. The enigmatic cytokine oncostatin m and roles in disease / C.D. Richards // *ISRN Inflammation*. – 2013. – Vol. 2013.
143. Root Border Cells and Their Role in Plant Defense / M. Hawes, C. Allen, B.G. Turgeon [et al.] // *Annual review of phytopathology*. – 2016. – Vol. 54. – P. 143-161.
144. Schönrich, G. Neutrophil Extracellular Traps Go Viral / G. Schönrich, M. Raftery // *Frontiers in Immunology*. – 2016. – Vol. 19. – № 7. – P.1-7.
145. Secreted Phosphatase and Deoxyribonuclease Are Required by *Pseudomonas aeruginosa* To Defend against Neutrophil Extracellular Traps / M. Wilton, T.W.R. Halverson, L. Charron-Mazenod, [et al.] // *Infection and immunity*. – 2018. – Vol. 86. – № 9. – P. 1-12.
146. Selective Biological Responses of Phagocytes and Lungs to Purified Histones / F. Fattahi, J.J. Grailer, H. Lu, [et al.] // *Journal of Innate Immunity*. – 2017. – Vol. 9. – P. 300-317.
147. Sivasubramaniam, R. The microbiome and chronic rhinosinusitis / R. Sivasubramaniam, R. Douglas // *World Journal of Otorhinolaryngology – Head and Neck Surgery*. – 2018. – Vol. 4. – № 3. – P. 216-221.
148. SNOT-22 quality of life domains differentially predict treatment modality selection in chronic rhinosinusitis / A.S. DeConde, J.C. Mace, T. Bodner, [et al.] // *International forum of allergy & rhinology*. – 2014. – Vol. 4. – № 12. – P. 972-979.
149. Study of interaction between the polyoxidonium immunomodulator and the human immune system cells / V.A. Dyakonova, S.V. Dambaeva, B.V. Pinegin, [et al.] // *International immunopharmacology*. – 2004. – Vol. 4. – № 13. – P. 1615-1623.
150. Succar, E.F. Recent advances in understanding chronic rhinosinusitis endotypes / E.F. Succar, J.H. Turner // *F1000Research*. – 2018. – Vol. 7. – F1000 Faculty Rev-1909. – P. 1-7.

151. Teul, I. Upper respiratory tract diseases in self-evaluation of health status of Polish students based on the SF-36 questionnaire / I. Teul, S. Baran, W. Zbislawski // *Journal of Physiology and Pharmacology*. – 2008. – Vol. 59. – № 6. – P. 697-707.
152. The microbiome of the middle meatus in healthy adults / V.R. Ramakrishnan, L.M. Feazel, S.A. Gitomer, [et al.] // *Plos One*. – 2013. – Vol. 8. – № 12. – P. 1-10.
153. The nasal microbiome in patients with chronic rhinosinusitis: analyzing the effects of atopy and bacterial functional pathways in 111 patients / M. Mahdavinia, P.A. Engen, P.S. LoSavio, [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2018. – Vol. 142. – № 1. – P. 287-290.
154. Topical probiotics as a therapeutic alternative for chronic rhinosinusitis: a preclinical proof of concept / J.S. Schwartz, A.G. Peres, E.L. Mfuna, [et al.] // *The American Journal of Rhinology & Allergy*. – 2016. – Vol. 30. – № 6. – P. 202-205.
155. Type 2 inflammation in chronic rhinosinusitis without nasal polyps: Another relevant endotype / T. Delemarre, G. Holtappels, N. De Ruyck, [et al.] // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2020. – Vol. 146. – № 2. – P. 337-343.
156. Unsupervised network mapping of commercially available immunoassay yields three distinct chronic rhinosinusitis endotypes / R. Divekar, M. Rank, D. Squillace, [et al.] // *International forum of allergy and rhinology*. – 2017. – Vol. 7. – № 4. – P. 373-379.
157. Vanderpool, E. J. Host-microbe interactions in chronic rhinosinusitis biofilms and models for investigation / E. J. Vanderpool, K. P. Rumbaugh // *Biofilm*. – 2023. – Vol. 6.– P. 1-12.
158. Veloso-Teles, R. Endoscopic sinus surgery for chronic rhinosinusitis with nasal polyps: Clinical outcome and predictive factors of recurrence / R. Veloso-Teles, R. Cerejeira // *American journal of rhinology and allergy*. – 2017. – Vol. 31. – № 1. – P. 56-62.
159. Viruses in chronic rhinosinusitis: a systematic review / N. Kumar, T. Brar, H. Kita, [et al.] // *Frontiers in Allergy*. – 2023. – Vol. 4. – P. 1-14.
160. Wang, H. Neutrophils as a Protagonist and Target in Chronic Rhinosinusitis / H. Wang, L. Pan, Z. Liu // *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*. – 2019. – Vol. 12. – № 4. – P. 337-347.

161. Yadav, R. DNase based therapeutic approaches for the treatment of NETosis related inflammatory diseases / R. Yadav, A. Momin, C. Godugu // *International Immunopharmacology*. – 2023. – Vol. 124.
162. Zarbock, A. Therapeutic inhibition of CXCR2 by Reparixin attenuates acute lung injury in mice / A. Zarbock, M. Allegretti, K. Ley // *British journal of pharmacology*. – 2008. – Vol. 155. – № 3. – P. 357-364.
163. Zawrotniak, M. Selected mucolytic, anti-inflammatory and cardiovascular drugs change the ability of neutrophils to form extracellular traps (NETs) / M. Zawrotniak, A. Kozik, M. Rapala-Kozik // *Acta biochimica Polonica*. – 2015. – Vol. 62. – № 3. – P. 465-473.
164. Zhang, S. An Emerging Role of Extracellular Traps in Chronic Rhinosinusitis / S. Zhang, Z. Wang. // *Current Allergy and Asthma Reports*. – 2023. – Vol. 23. – № 12. – P. 675-688.