

На правах рукописи



Деханов Артем Сергеевич

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

3.1.3. Оториноларингология

3.2.7. Иммунология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2025

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научные руководители:

доктор медицинских наук, доцент
кандидат биологических наук

Никифорова Галина Николаевна
Воробьева Нина Викторовна

Официальные оппоненты:

Егоров Виктор Иванович – доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», кафедра оториноларингологии, заведующий кафедрой

Кириченко Ирина Михайловна – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Медицинский институт, кафедра оториноларингологии, профессор кафедры

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «30» октября 2025 г. в 13:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.36 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2025г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Дикопова Наталья Жоржевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 [7, 47, 78, 96, 110, 120].

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 [52]. 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 профилактики и лечения обострений, 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 [65,87], 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 [5, 45, 91].

Получены данные о способности некоторых лекарственных препаратов – в частности макролидов, глюкокортикостероидов и других [57, 75, 91, 154], влиять на процессы НЕТоза при заболеваниях, в основе которых лежит продолжительный воспалительный процесс. Отечественными исследователями описано положительное влияние Азоксимера бромидом на НВЛ при различных заболеваниях [29, 30]. В связи с этим мы провели исследование влияния Азоксимера бромидом 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 изучено 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 и ИГХ;

2. Впервые изучено количество НВЛ и нетотических нейтрофилов у пациентов без воспалительных процессов в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух методом иммуноферментного анализа и ИГХ;

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-тяжелым 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

Теоретический анализ современного состояния проблемы проведен путем поиска необходимой информации в открытых ресурсах E-Library, Scopus, Web of Science, 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.

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.

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).

Апробация диссертационной работы проведена на заседании кафедры болезней уха, горла и носа ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). (г. Москва, 13.02.2025 г., пр. №17).

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.

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.

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»).

Объем и структура 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Проведенное исследование построено 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.

В научно-исследовательской работе за период с 2020 по 2023 год приняли 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.

Распределение пациентов по клиническим группам. В качестве основной группы в исследовании приняли участие 82 пациента с хроническим риносинуситом (диагнозы соответствовали международной классификации болезней МКБ-10 J32.0-J32.9). Всем пациентам из этой группы 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. 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.

В качестве групп контроля приняли участие здоровые добровольцы в количестве 40 человек без острой и хронической ЛОР-патологии и 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).

Клиническое обследование. 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.

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

У здоровых добровольцев взятие назального отделяемого проводилось с использованием 0.9% NaCl в объеме 15 мл и последующим центрифугированием полученных смывов, отделением и заморозкой супернатанта при температуре -75°C . 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°C

Взятие венозной крови проводилось по стандартной методике.

У пациентов с ХРС из подгруппы «с хирургическим лечением» (n=61) и у пациентов из группы «с хирургическим лечением без ХРС» (n=15) осуществлялся забор гистологического материала интраоперационно во время эндоскопического вмешательства однократно с целью определения количества НВЛ в слизистой оболочке.

Исследование количества НВЛ в биологическом материале.

Количество НВЛ в материале оценивалось следующими методами:

1. Определением комплексов МПО-ДНК методом ИФА в смывах и периферической крови;
2. Определением дсДНК с использованием набора Quant-IT dsDNA PicoGreen в смывах и периферической крови;
3. В биоптате с использованием ИГХ.

Исследование качества жизни. У всех пациентов из группы с ХРС проводилась субъективная оценка качества жизни при помощи ВАШ и опросника Sinonasal Outcome Test 22 (SNOT 22). При дальнейшей оценке результатов применялось разделение вопросов базового опросника SNOT-22 на 5 доменов: ринологические симптомы, экстраназальные ринологические симптомы, ушные или лицевые симптомы, психологическая дисфункция, нарушение сна.

Объем лечения пациентов. Объем хирургического эндоскопического вмешательства определялся медицинскими показаниями. Пациенты с ХРС, которые получали иммуномодулирующую терапию, принимали курс Азоксимера бромид в суточной дозировке 6 мг/сутки интраназально ежедневно, с минимальной продолжительностью курса 10 дней.

Методы статистической обработки данных. Статистическая обработка проводилась 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 [Ме (25,75)]. Для наглядного отражения распределения значений использовались box-plot диаграммы, которые наглядно отражали распределение значений, открывая визуальный доступ к состоянию совокупности. 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 $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение НВЛ у пациентов с ХРС и в контрольной группе

Забор биологического материала, назальных смывов и венозной крови, проводился у 82 пациентов с диагнозом хронический риносинусит и у 40 здоровых добровольцев (контрольная группа). Перед анализом пациенты с ХРС и пациенты контрольной группы были проанализированы по демографическим параметрам (полу, возрасту) и их различия были сопоставимы ($p > 0.05$). Средний возраст в контрольной группе составил 34 ± 10 лет, средний возраст пациентов с ХРС составил 37 ± 11 лет. Количество внеклеточных ловушек в назальных смывах и сыворотке венозной крови, исследованные с помощью иммуноферментного анализа, представлены в виде медианы и межквартильного интервала в Таблице 1, а также наглядно отражены на Рисунке 1.

Таблица 1 – 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

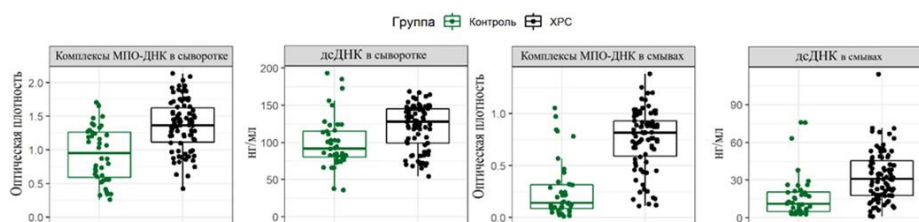


Рисунок 1 – Количественное определение НВЛ в группе здоровых добровольцев и в объединенной группе пациентов с ХРС

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 1). Наибольшие отличия между группой пациентов с ХРС до лечения и контрольной группой были заметны при определении комплексов МПО-ДНК в смывах (Таблица 1, Рисунок 1). Таким образом, полученные 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.

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

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 H2B локализуется исключительно в ядрах, тогда как нейтрофильная эластаза (НЭ) 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, H2B, а также ДНК частично перекрывается. Тогда красное (H2B), 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 2 можно видеть области перекрывания трех цветов (указаны белыми стрелками) в виде белых структур, свидетельствующих о наличии деконденсированного хроматина. На Рисунке 2 также можно видеть интактные нейтрофилы, не подвергшиеся НЕТозу, у которых все три цвета пространственно разделены (указаны красными стрелками).

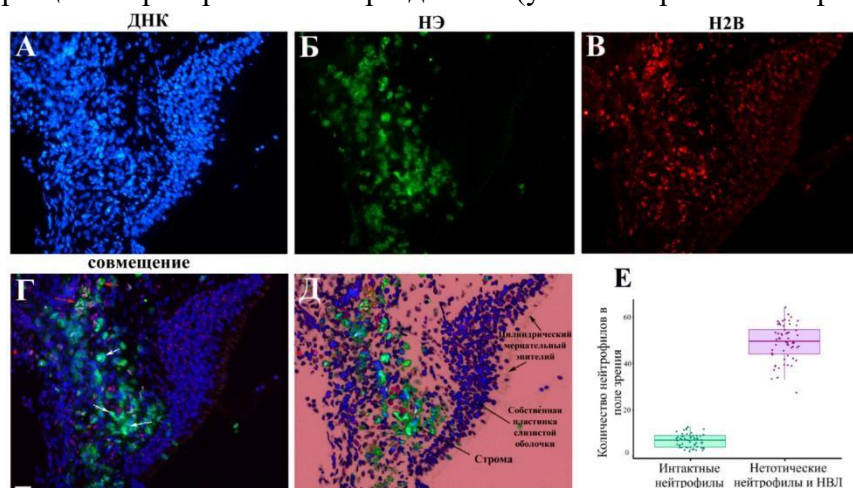


Рисунок 2 – Широкопольная флуоресцентная микроскопия парафиновых срезов слизистой оболочки носовых пазух пациентов с ХРС без полипов. На фотографиях (А,Б,В,Г) показана область слизистой оболочки носовой пазухи, полученной от одного из 60 пациентов (n=60) с ХРС без полипов и проанализированной с использованием 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 Н2В окрашивали с помощью первичных куриных антител против гистона Н2В 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 2Д).

В работе также были проанализированы образцы слизистой оболочки, полученные от здоровых доноров (Рисунок 3), 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 2Е, 2Е,3Д, 4, Таблица2).

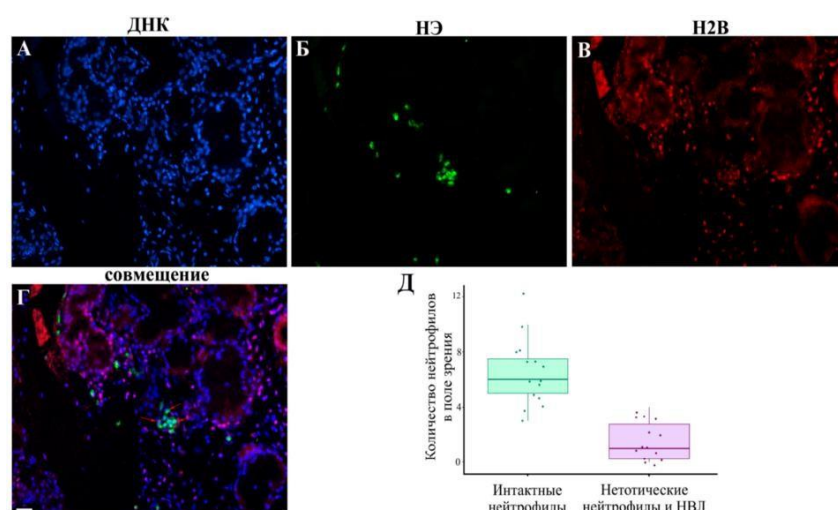


Рисунок 3 – Широкопольная флуоресцентная микроскопия парафиновых срезов слизистой оболочки носовых пазух доноров. На фотографиях (А,Б,В,Г) показана область слизистой оболочки околоносовой пазухи одного из 15 доноров (n=15), в которой полностью отсутствуют НВЛ. Можно видеть небольшое количество интактных нейтрофилов (указаны красными стрелками). Окрашивание антителами соответствует показанному на Рисунке 3. 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)

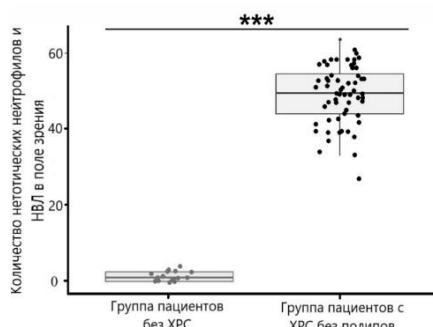


Рисунок 4 – Распределение НВЛ/нетотических нейтрофилов в образцах парафиновых срезов слизистой оболочки околоносовых пазух пациентов с ХРС без полипов и здоровых доноров. На гистограмме представлено распределение НВЛ/нетотических нейтрофилов в образцах парафиновых срезов слизистой оболочки околоносовых пазух пациентов с ХРС без полипов (n=60) и здоровых доноров (n=15). *** p < 0.001

Таблица 2 – 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 1 [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) ($p < 0.001$).

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.

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.

Оценка влияния иммунокорректирующей терапии пациентов с ХРС

Практический интерес представленной работы связан с изучением влияния на патогенез ХРС путем изменения активности НЕТоза в воспаленной слизистой оболочке околоносовых пазух и полости носа.

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 бромидом 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 ($p > 0.05$).

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

В соответствии с разделением на клинические группы, описанном ранее, курс лечения Азоксимера бромидом получали 22 пациента с ХРС. Взятие назальных смывов и венозной крови для оценки маркеров НВЛ осуществлялось перед началом лечения и по завершении курса лечения Азоксимера бромидом.

Перед оценкой влияния Азоксимера бромидом на НВЛ было проведено сравнение показателей НЕТоза у пациентов с ХРС для оценки однородности подгрупп (Таблица 3).

Статистически значимых различий по количеству маркеров НВЛ (комплексы МПО-ДНК и дсДНК) между подгруппами пациентов с ХРС обнаружено не было ($p > 0.05$).

Таблица 3 – 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

¹ Медиана (межквартильный интервал)

² Критерий Манна-Уитни

³ ОП – оптическая плотность

Сравнение количества НВЛ у группы пациентов с ХРС, получавших Азоксимера бромид (n=22), показало наличие статистически значимой разницы до и после лечения (Таблица 4) ($p < 0.05$). Количество НВЛ в назальных смывах и венозной крови у пациентов с ХРС (n=22) снижалось после курса лечения Азоксимера бромидом (Рисунок 5).

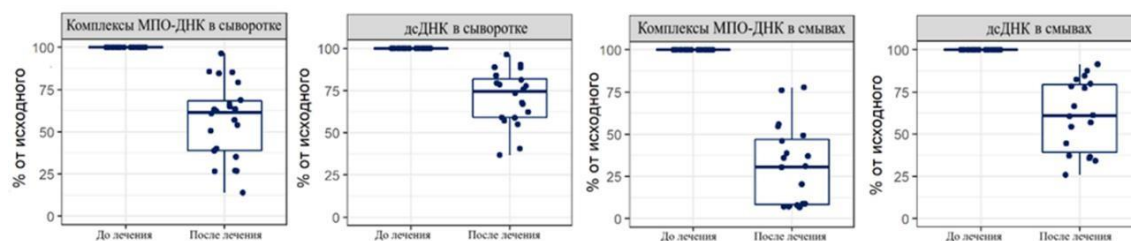


Рисунок 5 – Динамика количества НВЛ при приеме Азоксимера бромида (указаны значения параметров в % от исходного уровня)

Таблица 4 – 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

¹ Медиана (межквартильный интервал)

² ОП – оптическая плотность

³ Критерий Вилкоксона

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 6. Показатели НВЛ (дсДНК) в смывах пациентов с ХРС после проведенного лечения приблизились к показателям здоровых пациентов.

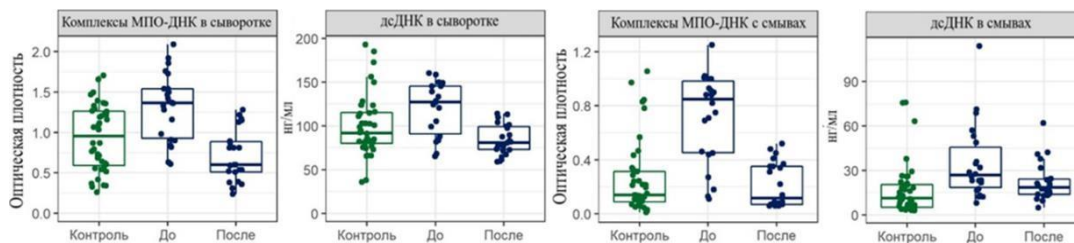


Рисунок 6 – Количество НВЛ при приеме Азоксимера бромида в сравнении с контрольной группой

Таким образом, после 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 6) после проведенного лечения говорит о наличии иммунокорректирующего влияния у Азоксимера бромида на процессы НЕТоза, которые являются частью воспалительного процесса при ХРС.

Одному пациенту ($n=1$) из группы с ХРС ($n=61$), согласившихся на хирургическое лечение, в предоперационном периоде был назначен курс Азоксимера Бромидом в той же дозировке, что и остальным пациентам (6 мг в сутки, интраназально), принимавшим этот иммуномодулятор в качестве альтернативы хирургическому лечению. 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 7).

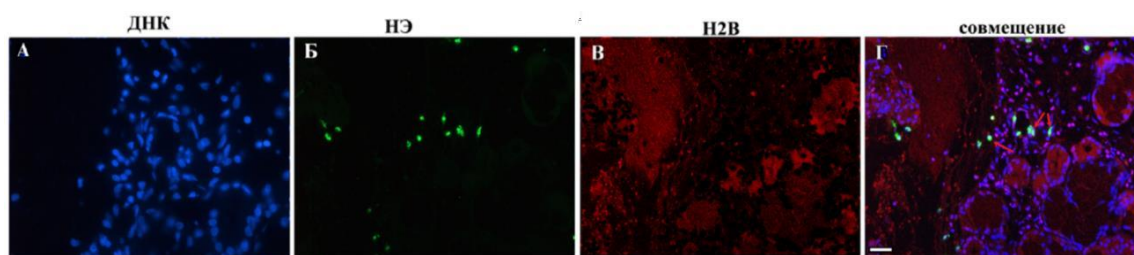


Рисунок 7 – Широкопольная флуоресцентная микроскопия парафинового среза слизистой оболочки носовой пазухи пациента, получавшего Азоксимера бромид в предоперационном периоде. Окраска моноклональными антителами соответствует представленной на Рисунках 2 и 3. Объектив, 20х. Шкала, 25 мкм

На Рисунке 7 (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. (Рисунок 4).

Таким образом, у пациента с ХРС без полипов вне обострения после приема курса Азоксимера бромида (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.

Оценка влияния лечения на качество жизни при ХРС

Оценка клинической эффективности проведенного лечения всех пациентов с ХРС проводилась при помощи использования опросников ВАШ и SNOT-22. 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.

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] баллов.

Медиана [МКИ] баллов по ВАШ у пациентов до хирургического лечения составила 6,4 [6,1;6,9] балла, а после 4,8 [4,5;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 5, Рисунок 8).

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 5, Рисунок 8).

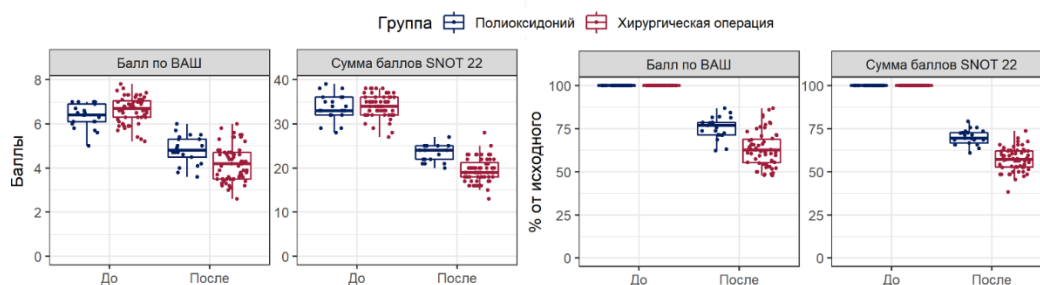


Рисунок 8 – Динамика показателей эффективности и сравнение силы эффекта в исследуемых группах

Таблица 5 – 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
Балл 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

Продолжение таблицы 5

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

¹ Медиана (межквартильный интервал)² Критерий Уилкоксона

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 5). В течение 3-х 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 6, Рисунок 9). По доменам «Психологическая дисфункция», «Дисфункция сна» различия в выраженности эффекта в зависимости от метода лечения не определялись. (Таблица 6).

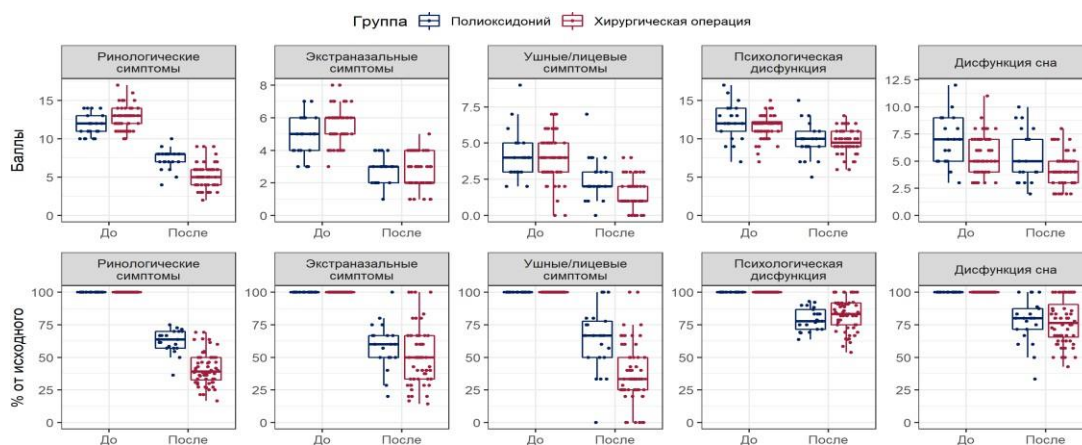


Рисунок 9 – Динамика выраженности симптомов по доменам опросника SNOT 22 и сравнение силы эффекта в исследуемых группах

Таблица 6 – 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	Операция, 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

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, 43, 49]. 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 бромид 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 1 [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 бромидом 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 бромидом 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 (количественное определение

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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **А.С. Деханов**, В.М. Свистушкин, Г.Н. Никифорова, Н.В. Воробьева // Материалы IX международного Петербургского форума оториноларингологов России. 5-7 октября 2020 г. - СПб.: Полифорум Групп, 2020. – С. 294
2. Нейтрофильные внеклеточные ловушки в патогенезе хронического риносинусита / Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Воробьева Н.В., **Деханов А.С.**, Дагиль Ю.А., Бредова О.Ю., Еремеева К.В. // Вестник оториноларингологии. – 2021. – Т.86. –№ 6. – С.105-112.
3. Внеклеточные ловушки как важная часть патогенеза при хроническом риносинусите / Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Воробьева Н.В., **Деханов А.С.** // Consilium Medicum. – 2021. – Т. 23. – № 9. – С. 395-399.
4. Сравнительная оценка влияния азоксимера бромида и хирургического лечения на качество жизни пациентов с хроническим риносинуситом без полипов / Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., **Деханов А.С.**, Никифорова А.Н. // Вестник оториноларингологии. – 2024. – Т.89. – №.2. – С.46-51. [**Scopus, PubMed**]
5. Нейтрофильные внеклеточные ловушки как важная часть патогенеза хронического риносинусита без полипов/ Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Пинегин Б.В., Воробьева Н.В., **Деханов А.С.**, Дагиль Ю.А., Миронова А.Р.// **Consilium Medicum.** – 2024. Т – 26. –№9. – С. – 587-594.
6. Нейтрофильные внеклеточные ловушки в слизистой оболочке околоносовых пазух у пациентов с хроническим риносинуситом без полипов / Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., **Деханов А.С.**, Дагиль Ю. А., Второва Ю.А., Гусева Н.А., Воробьева Н.В., Пинегин Б.В. // **Иммунология.** – 2024. –Т.45. – №.6. – С. – 731-741. [**Scopus**]

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.

НВЛ – нейтрофильные внеклеточные ловушки;

НЕТоз – процесс образования нейтрофильных внеклеточных ловушек;

НЭ - нейтрофильная эластаза;

ХРС – хронический риносинусит;

ЭТоз – процесс образования эозинофильных внеклеточных ловушек;

H2B – гистон H2B;

SNOT - Sino-Nasal Outcome Test;

TBS - Трис-буферный физиологический раствор;

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