

Нейтрофильные внеклеточные ловушки как важная часть патогенеза хронического риносинусита без полипов

В.М. Свистушкин¹, Г.Н. Никифорова¹, Б.В. Пинегин², Н.В. Воробьева³, А.С. Деханов^{✉1}, Ю.А. Дагиль^{2,4}, А.Р. Миронова¹

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

²ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА России, Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия;

⁴ООО «НПО Петровакс Фарм», Подольск, Россия

Аннотация

Актуальность. Хронический синусит (ХРС) встречается в Российской Федерации у 16,4±10,89% населения и оказывает большое влияние на качество жизни пациентов. Воспалительный процесс, лежащий в основе данной патологии, часто устойчив к консервативному лечению и становится причиной хирургического вмешательства. Изучение роли нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) как важной части иммунного ответа, а также возможностей препаратов, способных влиять на процессы НЕТоза (от англ. NET – neutrophil extracellular traps) – программы образования НВЛ, является значимым и актуальным направлением современных исследовательских работ.

Цель. Изучить роль НВЛ в патогенезе ХРС без полипов, оценить влияние азоксимера бромида на метаболизм НВЛ у пациентов с ХРС.

Материалы и методы. В исследование включены 82 пациента с диагнозом ХРС (средний возраст – 37±12 лет) и 40 здоровых добровольцев (средний возраст – 34±10 лет). Больным с ХРС проведено лечение – хирургическое вмешательство и курс азоксимера бромида, тяжесть заболевания у пациентов исходно не отличалась. У всех участников исследования выполнен анализ назальных смывов и венозной крови с определением суррогатных маркеров НВЛ – комплексов миелопероксидазы с ДНК и детекцией двуспиральной ДНК (набор Quant Pico Green dsDNA). У пациентов, которые получали азоксимера бромид, материал брали дважды – до начала курса лечения и через 10 дней после него.

Результаты. У больных с ХРС количество НВЛ в назальных смывах и венозной крови выше по сравнению с контрольной группой – КГ ($p<0,05$). Применение азоксимера бромида при ХРС вне обострения снижает активность процессов НЕТоза при интраназальном применении препарата не только локально (снижение НВЛ в назальных смывах); $p<0,05$, но и системно (снижение НВЛ в венозной крови); $p<0,05$.

Заключение. Повышение количества НВЛ в назальных смывах и венозной крови у пациентов с ХРС вне обострения по сравнению с КГ может говорить о вероятной патологической роли процессов НЕТоза, а повышение количества НВЛ в крови у пациентов с ХРС вне обострения по сравнению с КГ – о системном влиянии локального воспалительного процесса в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух.

Ключевые слова: нейтрофильные внеклеточные ловушки, хронический риносинусит, патогенез риносинусита без полипов, НЕТоз, азоксимера бромид

Для цитирования: Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Пинегин Б.В., Воробьева Н.В., Деханов А.С., Дагиль Ю.А., Миронова А.Р. Нейтрофильные внеклеточные ловушки как важная часть патогенеза хронического риносинусита без полипов. Consilium Medicum. 2024;26(9):587–593. DOI: 10.26442/20751753.2024.9.202834

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2024 г.

Введение

Хронический риносинусит (ХРС) – заболевание, в основе которого лежат стойкие воспалительные изменения слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух,

формирующиеся обычно на фоне патологического процесса продолжительностью 12 нед и более. Для ХРС характерно сохранение 2 жалоб и более (заложенности носа, отделяемого из носа, локализованных головных болей, снижения

Информация об авторах / Information about the authors

[✉] **Деханов Артем Сергеевич** – аспирант каф. болезней уха, горла и носа Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). E-mail: dehanovartem@rambler.ru

Свистушкин Валерий Михайлович – д-р мед. наук, проф., зав. каф. болезней уха, горла и носа ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет)

Никифорова Галина Николаевна – д-р мед. наук, проф. каф. болезней уха, горла и носа ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет)

Пинегин Борис Владимирович – д-р мед. наук, проф., зав. отд. клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии»»

Воробьева Нина Викторовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. каф. иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»

Дагиль Юлия Алексеевна – канд. биол. наук, рук. отд. клинической иммунологии ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии»», рук. группы биохимических методов исследования ООО «НПО Петровакс Фарм»

Миронова Анна Руслановна – ординатор каф. болезней уха, горла и носа Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет)

[✉] **Artem S. Dekhanov** – Graduate Student, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

E-mail: dehanovartem@rambler.ru; ORCID: 0000-0003-0549-898X

Valery M. Svistushkin – D. Sci. (Med.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

ORCID: 0000-0001-7414-1293

Galina N. Nikiforova – D. Sci. (Med.), Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). ORCID: 0000-0002-8617-0179

Boris V. Pinegin – D. Sci. (Med.), Prof., National Research Center – Institute of Immunology. ORCID: 0000-0002-8329-212X

Nina V. Vorobjeva – Cand. Sci. (Med.), Lomonosov Moscow State University. ORCID: 0000-0001-5233-9338

Yulia A. Dagil – Cand. Sci. (Biol.), National Research Center – Institute of Immunology, NPO Petrovax Pharm, LLC.

ORCID: 0000-0001-9320-0789

Anna R. Mironova – Medical Resident, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

ORCID: 0000-0003-3877-0935

Neutrophil extracellular traps as an important part of the pathogenesis of chronic rhinosinusitis without polyps

Valery M. Svistushkin¹, Galina N. Nikiforova¹, Boris V. Pinegin², Nina V. Vorobjeva³, Artem S. Dekhanov^{✉1}, Yulia A. Dagil^{2,4}, Anna R. Mironova¹

¹Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

²National Research Center – Institute of Immunology, Moscow, Russia;

³Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

⁴NPO Petrovax Pharm, LLC, Podolsk, Russia

Abstract

Background. Chronic sinusitis occurs in the Russian Federation in 16.4±10.89% of the population and has a great impact on the quality of life of patients. The inflammatory process underlying this pathology is often resistant to conservative treatment and causes surgical intervention. The study of the role of neutrophil extracellular traps as an important part of the immune response, as well as the capabilities of drugs capable of influencing the processes of netosis, is an important and relevant area of modern research.

Aim. Studying the role of NETs in the pathogenesis of CRS without polyps, assessing the effect of azoximer bromide on the metabolism of NETs in patients with CRS.

Materials and methods. The study included 82 patients diagnosed with chronic rhinosinusitis (average age 37±12 years), and 40 healthy volunteers (average age 34±10 years). Patients with CRS were treated with surgery and a course of azoximer bromide, the severity of the disease did not differ in patients. Nasal secretions and venous blood were analyzed in all study participants with the determination of surrogate markers of neutrophil extracellular traps – myeloperoxidase complexes with DNA and the detection of double-stranded DNA (Quant Pico Green dsDNA kit). In patients who received azoximer bromide, the material was taken twice – before the start of treatment and 10 days after the course of treatment.

Results. In patients with CRS, the amount of NETs in nasal secretions and venous blood is higher compared to the control group ($p<0.05$). The use of azoximer bromide in CRS outside of exacerbation reduces the activity of NETosis processes with intranasal use of the drug not only in the area of inflammation (reduction of NET in nasal secretions); $p<0.05$, but also at the general level (decrease NETs in venous blood); $p<0.05$.

Conclusion. An increase in the amount of NETs in nasal flushes and venous blood in patients with CRS without exacerbation compared with the control group may indicate a likely pathological role of NETosis processes, and an increase in the amount of NETs in the blood of patients with CRS without exacerbation compared with the control group indicates the systemic effect of a local inflammatory process in the mucous membrane of the nasal cavity and paranasal sinuses.

Keywords: neutrophil extracellular traps, chronic rhinosinusitis, pathogenesis of rhinosinusitis without polyps, netosis, azoximer bromide

For citation: Svistushkin VM, Nikiforova GN, Pinegin BV, Vorobjeva NV, Dekhanov AS, Dagil YuA, Mironova AR. Neutrophil extracellular traps as an important part of the pathogenesis of chronic rhinosinusitis without polyps. *Consilium Medicum*. 2024;26(9):587–593. DOI: 10.26442/20751753.2024.9.202834

обоняния) при наличии характерных изменений, диагностированных при эндоскопическом или рентгенологическом исследовании, в том числе при компьютерной томографии [1, 2]. Средняя распространенность ХРС в мире по данным исследователей составляет 11,61±5,47% среди взрослого населения, в Российской Федерации – около 16,4±10,89% [3]. Отличия между эпидемиологическими данными связаны с методологическими особенностями проведения исследований и ограниченным количеством работ, в которых изучаются показатели распространенности риносинусита [3].

Актуальной проблемой является влияние ХРС на жизнь пациента, в том числе после проведенного адекватного лечения. В связи с этим изучение состояния иммунной системы, обусловленного патогенезом ХРС, и поиск новых подходов к ведению таких больных составляют важное направление научных исследований отечественных и зарубежных ученых [1, 2]. Значительный интерес представляет изучение возможностей терапевтического влияния на такой важный компонент иммунного ответа (ИО) при ХРС, как нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ) [2, 4].

НВЛ образуются в процессе запрограммированного разрушения гранулоцита с выходом во внеклеточное пространство сетевидной ДНК, окруженной компонентами гранул, ядра и цитоплазмы. К 2004 г. приведенный механизм достаточно хорошо изучен у человека и получил такое название, как НЕТоз (от англ. NET – neutrophil extracellular traps), под которым понимают программу образования НВЛ [5, 6]. Впоследствии процесс образования НВЛ описан у многих представителей животного мира, в том числе у насекомых, рыб и млекопитающих [7]. НВЛ являются неотъемлемой частью ИО на внешнюю инвазию, а их образование направлено на усиление защитных свойств организма [8]. В то же время накоплено немало данных, свидетельствующих о возможной отрицательной роли

НВЛ при многих аутоиммунных и воспалительных заболеваниях, в том числе при ХРС [4, 8–12].

В настоящее время исследователи изучают возможности подавления НЕТоза при хронических заболеваниях как важной части ИО с целью минимизации его негативных эффектов [13, 14]. В клинической практике для лечения ХРС с иммунокорректирующей целью может быть рассмотрено применение азоксимера бромид, который *in vitro* подавляет способность активированных нейтрофилов к избыточному образованию НВЛ, обладающих цитотоксическим эффектом [14]. Азоксимера бромид разработан в 1983 г. коллективом ученых из ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» и активно применяется в медицине более 25 лет [15]. Воздействуя на разные звенья фагоцитарной системы, он повышает бактерицидную эффективность лейкоцитов, усиливает защиту организма от широкого спектра патогенов, а также подавляет избыточное образование активных форм кислорода, способных повреждать, в том числе, собственные ткани [14, 15]. Исследование азоксимера бромид в клинической практике показало хорошую эффективность и высокий профиль безопасности при его назначении у детей и взрослых с воспалительными заболеваниями верхних и нижних отделов дыхательных путей [16–18].

Цель исследования – изучить роль НВЛ в патогенезе ХРС без полипов, оценить влияние азоксимера бромид на метаболизм НВЛ у пациентов с ХРС при исследовании крови и смывов.

Материалы и методы

Пациенты: критерии отбора

В ходе научно-исследовательской работы, проведенной на базе кафедры болезней уха, горла и носа ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) за 2020–2023 гг., обследованы 82 пациента с диагнозом

ХРС (диагнозы соответствовали Международной классификации болезней 10-го пересмотра J32.0-J32.9) – основная группа (ОГ), а также 40 здоровых добровольцев – контрольная группа (КГ). Группы были однородными по полу и возрасту. Выборка сплошная.

В ОГ включены 40 человек с подтвержденным ХРС без полипов на основании жалоб, анамнеза, данных компьютерной томографии. У пациентов ОГ частота обострений составляла не менее 3–4 раз в год, купирование которых проводили с положительным эффектом с помощью комплексной антибактериальной, мукоактивной, ирригационно-элиминационной, интраназальной стероидной терапии. После устранения признаков последнего обострения ХРС до включения в исследование у всех участников ОГ должно было пройти не менее 1 мес. Критериями исключения являлись эпизод обострения риносинусита менее чем за 1 мес до исследования, наличие хронического полипозного процесса и инородных тел в околоносовых синусах, беременность, активные сопутствующие воспалительные процессы в других органах.

В КГ включены 40 человек без сопутствующих воспалительных заболеваний. Критериями исключения являлись острые респираторные заболевания менее чем за 1 мес до исследования, наличие ХРС и другой хронической воспалительной патологии, беременность.

Всем пациентам с ХРС показано и предложено хирургическое лечение (ХЛ) – функциональное эндоскопическое вмешательство на околоносовых пазухах, на которое согласились 61 человек из них, а 21 пациент отказался от хирургического вмешательства, в связи с чем в качестве альтернативы им назначен азоксимера бромид (Полиоксидоний®) – иммуномодулятор, обладающий комплексным действием, в том числе детоксицирующим и противовоспалительным. Один пациент (n=1) из ОГ с ХЛ принимал азоксимера бромид в предоперационном периоде – за 10 дней до хирургического вмешательства, с забором материала для исследования до начала курса лечения и после его завершения, в день операции. В дальнейшем результаты оценки маркеров НВЛ в смывах и крови этого пациента и остальных пациентов, отказавшихся от ХЛ, оценивались совокупно (n=22). Другие пациенты с ХЛ (n=60) в предоперационном периоде лечение азоксимера бромидом не получали. Азоксимера бромид пациенты применяли интраназально (по 4–5 капель 3 раза в день курсом 10 дней) в виде разведенного лиофилизата по 6 мг во флаконе (15 человек) и раствора по 6 мг/мл вещества (7 человек). Причиной замены лиофилизата на раствор стало изменение формы выпуска препарата производителем, при этом показания, дозировка, кратность и продолжительность его применения остались прежними.

Методы получения биологического материала

У всех больных ХРС проводили забор биологического материала: назального смыва, венозной крови. У пациентов, которым в дальнейшем проводили ХЛ, повторно материал после него не брали. У тех человек, которые принимали азоксимера бромид, после завершения курса терапии повторно брали материал для исследования.

У здоровых добровольцев назальное отделяемое брали в соответствии с техникой, описанной в научной литературе [4, 19], с использованием 15 мл 0,9% хлорида натрия и последующим центрифугированием полученных смывов, отделением и заморозкой супернатанта при температуре -70°C . У пациентов ОГ назальный секрет брали при проведении лечебно-диагностической пункции пазухи носа и ее промывании 15 мл 0,9% хлорида натрия, с последующим центрифугированием полученных смывов, отделением и заморозкой супернатанта при температуре -75 или -70°C [4].

Взятие крови для получения сыворотки осуществляли с помощью вакуумной системы в пробирки Vacurette-3,5 мл

с активатором свертывания. В дальнейшем пробирки подвергали центрифугированию с последующим отделением супернатанта (слой жидкости, расположенного над осадком после центрифугирования) от форменных элементов крови, заморозкой полученного материала при температуре -70°C .

Методы оценки НВЛ

Количество НВЛ в биоматериале оценивали 2 способами: определением комплексов миелопероксидазы с ДНК (МПО-ДНК) и детекцией двуспиральной ДНК (дсДНК) в наборе Quant Pico Green dsDNA по инструкции производителя.

Определение комплексов МПО-ДНК

Планшеты Nunc Polysorb сенсibilizировали антителами к МПО (MCA 1757, Bio-Rad, США) в количестве 75 мкл в лунку и в концентрации 5 мкг/мл в течение ночи при температуре $4-8^{\circ}\text{C}$. На следующий день не связавшиеся антитела трижды отмывали фосфатно-солевым буфером (PBS), свободные сайты связывания блокировали 1% бычьим сывороточным альбумином (ПанЭко) в течение 1 ч при комнатной температуре на шейкере, отмывали PBS и вносили тестовые образцы и контроли, разведенные в PBS с 0,1% бычьим сывороточным альбумином. Инкубирование проводили 2 ч при комнатной температуре на шейкере, отмывали PBS, вносили антитела к ДНК (ab27156, Abcam, США) на 1 ч, отмывали и добавляли вторичные антитела к иммуноглобулину G2a мыши, конъюгированные с пероксидазой (115-035-206, Jackson Immunoresearch, США) в конечном разведении 1:5000. Инкубировали 1 ч при температуре 37°C на шейкере, отмывали PBS и вносили субстрат для пероксидазы – 3,3',5,5'-тетраметилбензидина гидрохлорид. Инкубацию проводили при температуре 37°C до развития окраски. Реакцию учитывали на иммуноферментном анализаторе BioTek ELx 808 (BioTek, Германия) при длине волны 450 нм.

Определение циркулирующей дсДНК

Определение дсДНК осуществляли по инструкции производителя с применением набора Quant-IT dsDNA PicoGreen. Биоматериал (назальный смыв и сыворотку крови) разводили 4 раза однократным ТЕ реагентом (буферным раствором, позволяющим защитить ДНК от деградации), который входит в состав набора. Интенсивность флуоресценции учитывали на флуориметре Synergy LX (BioTek, Германия) при максимуме поглощения 480 нм и максимуме испускания 520 нм.

Статистические методы

Статистическую обработку полученных данных производили с использованием программного обеспечения R версии 4.0.4. Для проверки различий между исследуемыми группами по демографическим параметрам применяли 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 [медиана 25; 75]. Для определения достоверности межгрупповых различий использовали U-критерий Манна-Уитни, а для оценки динамики показателей – критерий Уилкоксона. Различия величин оценивали как значимые при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Количественная оценка НВЛ в смывах и крови у здоровых доноров и пациентов с ХРС

Для того чтобы оценить количество НВЛ у здоровых доноров и пациентов с ХРС без полипов, использовали 2 метода: определение комплексов МПО-ДНК и детекцию циркулирующей дсДНК в сыворотке крови и назальных смывах, как указано в разделе статьи «Материалы и методы».

Перед анализом все пациенты в обеих группах проанализированы по демографическим параметрам (полу, воз-

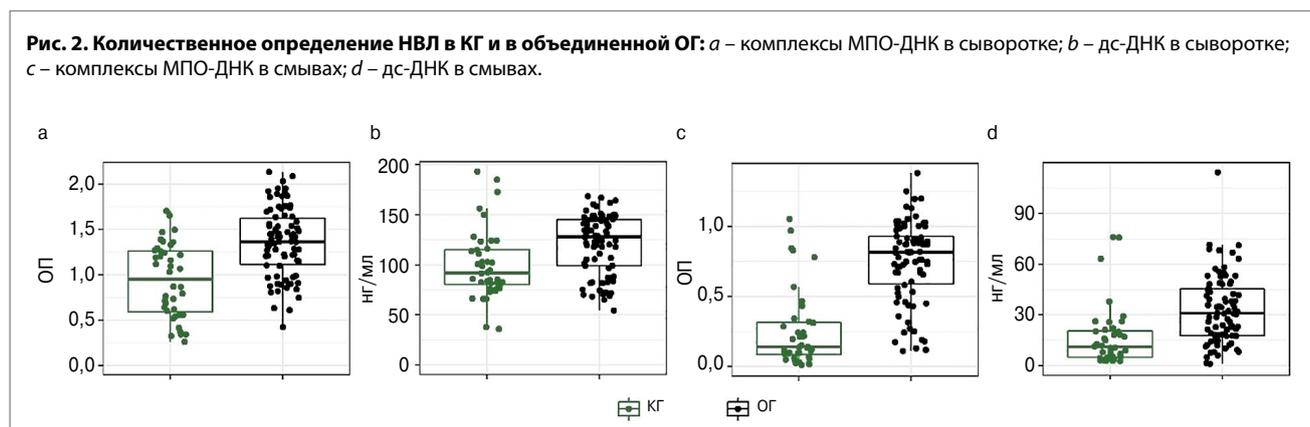
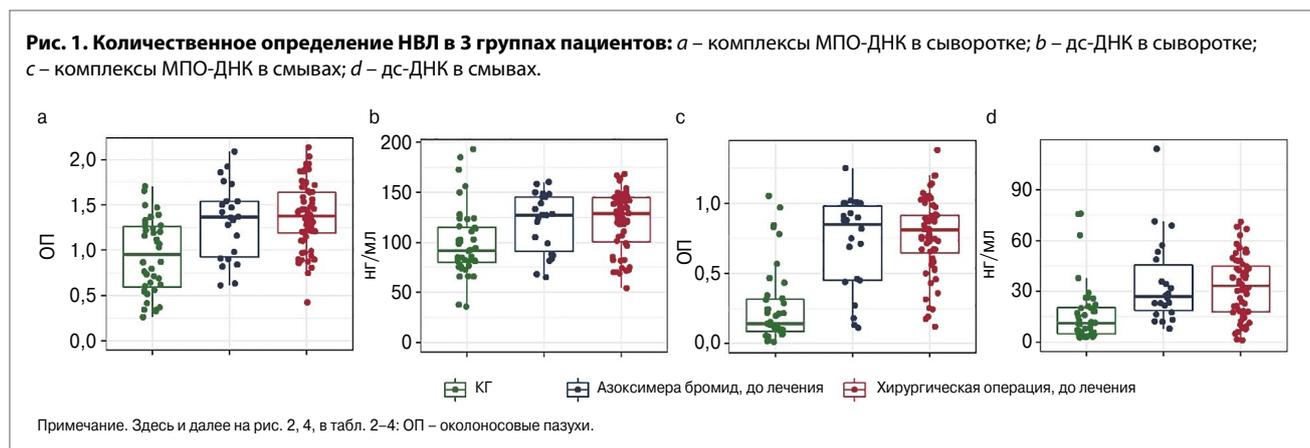


Таблица 1. Демографические параметры (пол, возраст) в исследуемых группах

Параметр	Контроль, n=40*	Азоксимера бромид, n=22*	Хирургическая операция, n=60*	p**
Возраст	34±10	34±10	38±14	0,2
Пол, %				
женский	21 (52)	11 (50)	32 (53)	>0,9
мужской	19 (48)	11 (50)	28 (47)	

*Среднее ± стандартное отклонение; число субъектов; **ANOVA; критерий хи-квадрат Пирсона.

Таблица 2. Количественное определение НВЛ (сравнение между группами пациентов с ХРС)

Параметр	Азоксимера бромид, до лечения, n=22*	Хирургическая операция, до лечения, n=60*	p**
Комплексы МПО-ДНК в сыворотке (ОП)	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 в сыворотке, нг/мл	127 [91; 145]	129 [101; 145]	>0,9
дсДНК в смывах, нг/мл	27 [19; 46]	33 [18; 45]	>0,9

Здесь и далее в табл. 3: *медиана (межквартильный интервал); **критерий Манна-Уитни.

расту), достоверно не различались. Как видно из табл. 1, средний возраст в КГ составил 34±10 лет, всех пациентов с ХРС – 37±12 лет.

Пациенты с ХРС из группы, планирующей хирургическое вмешательство (n=60), и из группы, планирующей только прием азоксимера бромида (n=22), по возрасту, полу (см. табл. 1), оптической плотности (ОП) комплексов МПО-ДНК, количеству внеклеточной дсДНК в сыворотке крови и назальных смывах не отличались между собой (табл. 2, рис. 1).

Отсутствие статистически значимой разницы между группами пациентов с ХРС до лечения по всем исследуемым параметрам подтвердило возможность объединения их в одну группу (n=82) для сравнения с группой здоровых добровольцев (n=40), что и было запланировано изначально. По результатам сравнения комплексов МПО-ДНК и внеклеточной дсДНК, отражающих количество НВЛ в материале, между пациентами с ХРС (n=82) и здоровыми добровольцами (n=40) выявлена статистически значимая разница (p<0,05); табл. 3. Наибольшие отличия между ОГ до лечения и КГ заметны при определении комплексов МПО-ДНК в смывах (см. табл. 3, рис. 2).

Таблица 3. Количественное определение НВЛ (сравнение между КГ и объединенной ОГ)

Параметр	Контроль, n=40*	ХРС, n=82*	p**
Комплексы МПО-ДНК в сыворотке (ОП)	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

Влияние азоксимера бромида на образование НВЛ при ХРС

Для исследования действия азоксимера бромида на образование НВЛ у пациентов с ХРС курс лечения проводили интраназально в течение 10 дней, как указано в разделе статьи «Материалы и методы». Количество НВЛ оценивали в назальных смывах и сыворотке крови у пациентов с ХРС до и после лечения азоксимера бромидом (n=22), а также у здоровых доноров (в КГ) упомянутыми методами. Резуль-

Рис. 3. Динамика количества НВЛ при приеме азоксимера бромид (указаны значения параметров в % от исходного уровня): *a* – комплексы МПО-ДНК в сыворотке; *b* – дс-ДНК в сыворотке; *c* – комплексы МПО-ДНК в смывах; *d* – дс-ДНК в смывах.

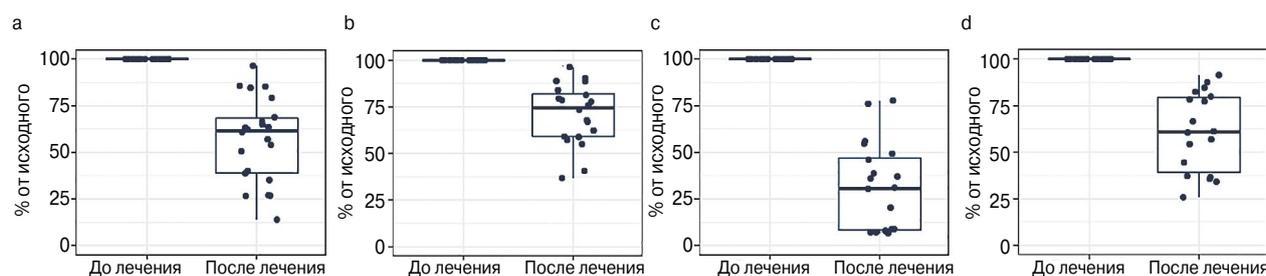


Рис. 4. Динамика количества НВЛ при приеме азоксимера бромид в сравнении с КГ: *a* – комплексы МПО-ДНК в сыворотке; *b* – дс-ДНК в сыворотке; *c* – комплексы МПО-ДНК в смывах; *d* – дс-ДНК в смывах.

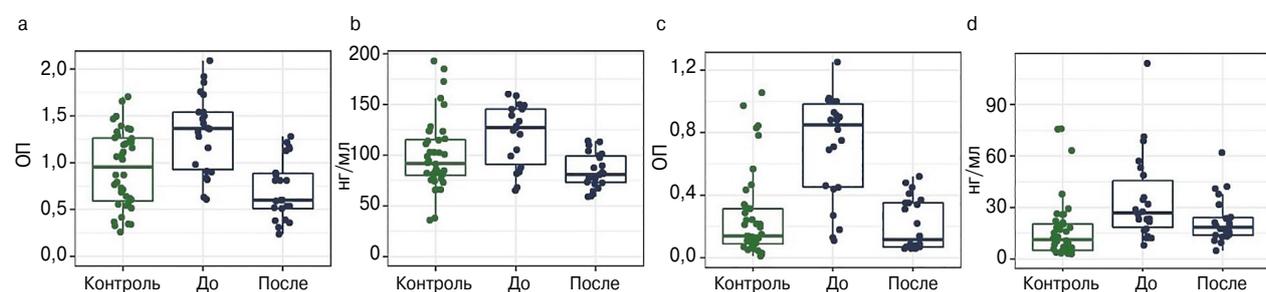


Таблица 4. Количественное определение НВЛ (сравнение между визитами в группе пациентов, принимавших азоксимера бромид)

Параметр	Азоксимера бромид, до лечения, n=22*	Азоксимера бромид, после лечения, n=22*	<i>p</i> **
Комплексы МПО-ДНК в сыворотке (ОП)	1,37 [0,93; 1,54]	0,60 [0,51; 0,89]	<0,001
Комплексы МПО-ДНК в смывах (ОП)	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

*Медиана (межквартильный интервал); **критерий Уилкоксона.

таты показали наличие статистически значимой разницы между количеством НВЛ у пациентов с ХРС до и после лечения ($p < 0,05$); табл. 4, рис. 3. По всем исследуемым параметрам количество НВЛ в назальных смывах и венозной крови у пациентов с ХРС ($n=22$) после проведенного курса азоксимера бромидом наглядно снижалось (см. рис. 3). Оценка комплексов МПО-ДНК и внеклеточной дсДНК в исследуемом материале до и после лечения в назальных смывах показала, что снижение показателей в динамике было сильнее, чем в ВК (см. рис. 3).

После проведенного лечения азоксимера бромидом количество НВЛ у пациентов с ХРС (уровень внеклеточной дсДНК в сыворотке, комплексы МПО-ДНК в смывах и сыворотке) оказалось ниже, чем в КГ без сопутствующей патологии. Количество НВЛ по уровню внеклеточной дсДНК в смывах пациентов с ХРС после проведенного лечения приблизилось к показателям здоровых пациентов (рис. 4). Такой результат является проявлением противовоспалительного,

детоксицирующего и иммуномодулирующего свойств азоксимера бромид, в том числе способности к подавлению образования НВЛ [16].

Выводы

Результаты проведенного исследования позволяют сделать следующие выводы:

- 1) у пациентов с ХРС количество НВЛ в назальных смывах и венозной крови выше по сравнению с КГ ($p < 0,05$);
- 2) повышение количества НВЛ в назальных смывах у пациентов с ХРС вне обострения по сравнению с группой контроля может говорить о вероятном патологическом влиянии НЕТоза на воспалительный процесс в слизистой оболочке околоносовых пазух;
- 3) повышение количества НВЛ в крови у пациентов с ХРС вне обострения по сравнению с группой контроля может говорить о системном влиянии локального воспалительного процесса в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух на общее состояние организма;
- 4) применение азоксимера бромид 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 назальных смывах), но и на уровне организма (снижение НВЛ в венозной крови).

Заключение

НВЛ являются частью ИО и играют роль в воспалительном процессе при ХРС без полипов вне обострения, что подтверждается результатами исследования назальных смывов и венозной крови. Повышение 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 данного заболевания на организм даже вне

обострения болезни, что является уникальной особенностью исследовательской работы. Таким образом, в результате проведенного исследования получены новые данные, дополняющие современные представления о роли НВЛ в воспалительном процессе ХРС без полипов вне обострения [4, 13, 20, 21].

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. Ю.А. Дагиль является сотрудником ООО «НПО Петровакс Фарм».

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests. Yu.A. Dagil is an employee of NPO Petrovax Pharm, LLC.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) [протокол №02-20 от 05.02.2020]. Одобрение и процедуру проведения протокола получали по принципам Хельсинкской конвенции.

Ethics approval. The study was approved by the local ethics committee of Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) [protocol №02-20 dated 05.02.2020]. The approval and procedure for the protocol were obtained in accordance with the principles of the Helsinki Convention.

Информированное согласие на публикацию. Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

Литература/References

1. Арефьева Н.А., Вишняков В.В., Иванченко О.А., и др. Хронический риносинусит: патогенез, диагностика и принципы лечения. Клинические рекомендации. Под ред. А.С. Лопатина. М.: Практическая медицина, 2014 [Aref'eva NA, Vishniakov VV, Ivanchenko OA, et al. Khronicheskiy rinosinusit: patogenez, diagnostika i printsipy lecheniya. Klinicheskie rekomendatsii. Pod red. A.S. Lopatina. Moscow: Prakticheskaya medicina, 2014 (in Russian)].
2. Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C, et al. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2020. *Rhinology*. 2020;58(Suppl. S29):1-464. DOI:10.4193/Rhin20.600
3. Шамкина П.А., Кривопапов А.А., Рязанцев С.В., и др. Эпидемиология хронических риносинуситов. *Современные проблемы науки и образования*. 2019;3:188 [Shamkina PA, Krivopapov AA, Ryzantsev SV, et al. Epidemiology of chronic rhinosinusitis. *Modern Problems of Science and Education*. 2019;3:188 (in Russian)]. DOI:10.17513/spno.28891

4. Hwang JW, Kim JH, Kim HJ, et al. 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. *Clin Exp Allergy*. 2019;49(10):1306-1320. DOI:10.1111/cea.13448
5. Takei H, Araki A, Watanabe H, et al. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis. *J Leukoc Biol*. 1996;59(2):229-40. DOI:10.1002/jlb.59.2.229
6. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532-5. DOI:10.1126/science.1092385
7. Altincicek B, Stötzl S, Wygrecka M, et al. Host-derived extracellular nucleic acids enhance innate immune responses, induce coagulation, and prolong survival upon infection in insects. *J Immunol*. 2008;181(4):2705-12. DOI:10.4049/jimmunol.181.4.2705
8. Воробьева Н.В., Черняк Б.В. NETоз: молекулярные механизмы, роль в физиологии и патологии. *Биохимия*. 2020;85(10):1383-97 [Vorobjeva NV, Chernyak BV. Netosis: Molecular Mechanisms, Role in Physiology and Pathology. *Biochemistry*. 2020; 85(10):1383-97 (in Russian)]. DOI:10.31857/S0320972520100061
9. Dicker AJ, Crichton ML, Pumphrey EG, et al. Neutrophil extracellular traps are associated with disease severity and microbiota diversity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;141(1):117-27. DOI:10.1016/j.jaci.2017.04.022
10. Caudrillier A, Kessenbrock K, Gilliss BM, et al. Platelets induce neutrophil extracellular traps in transfusion-related acute lung injury. *J Clin Invest*. 2012;122(7):2661-71. DOI:10.1172/JCI61303
11. Jin X, Zhao Y, Zhang F, et al. Neutrophil extracellular traps involvement in corneal fungal infection. *Mol Vis*. 2016;22:944-52.
12. Jiménez-Alcázar M, Rangaswamy C, Panda R, et al. Host DNases prevent vascular occlusion by neutrophil extracellular traps. *Science*. 2017;358(6367):1202-1206. DOI:10.1126/science.aam8897
13. Jo A, Kim DW. Neutrophil Extracellular Traps in Airway Diseases: Pathological Roles and Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci*. 2023;24(5):5034. DOI:10.3390/ijms24055034
14. Пинегин Б.В., Дагиль Ю.А., Воробьева Н.В., Пашченков М.В. Влияния азоксимера бромид на формирование внеклеточных нейтрофильных ловушек. *PMJ*. 2019;1(III):42-6 [Pinegin BV, Dagil YuA, Vorobjeva NV, Pashchenkov MV. Azoximer bromide effect on the neutrophil extracellular traps formation. *RMJ*. 2019;1(III):42-6 (in Russian)].
15. Петров Р.В., Хайтов Р.М., Некрасов А.В., и др. Полиоксидоний: механизм действия и клиническое применение. *Медицинская иммунология*. 2000;2(3):271-8 [Petrov RV, Khaigov PM, Nekrasov AV, et al. Polyoxidonium: mechanism of action and clinical application. *Medical Immunology*. 2000;2(3):271-8 (in Russian)].
16. Караулов А.В., Горелов А.В. Применение азоксимера бромид для лечения воспалительных инфекций органов дыхания у детей: метаанализ контролируемых клинических исследований. *Инфектология*. 2019;11(4):31-41 [Karaulov AV, Gorelov AV. Use of azoximer bromide for treatment of children's inflammatory infections of respiratory system: a meta-analysis of controlled clinical studies. *Infectology*. 2019;11(4):31-41 (in Russian)]. DOI:10.22625/2072-6732-2019-11-4-31-41
17. Харит С.М., Галустьян А.Н. 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. *Педиатрия. Consilium Medicum*. 2017;2:55-61 [Kharit SM, Galustyan AN. Azoximer bromide is a safe and effective preparation for the treatment of acute respiratory infections of the upper respiratory tract in children: an overview of the results of double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trials of Phase II and III. *Pediatrics. Consilium Medicum*. 2017;2:55-61 (in Russian)].
18. Маланичева Т.Г., Агафонова Е.В. Эффективность иммуномодулирующей терапии внебольничной пневмонии у часто болеющих детей. *Детские инфекции*. 2018;17(4):38-42 [Malanicheva TG, Agafonova EV. The Effectiveness of Immunomodulatory Therapy of Community-acquired Pneumonia in Frequently ill Children. *Children Infections*. 2018;17(4):38-42 (in Russian)]. DOI:10.22627/2072-8107-2018-17-4-38-42
19. Jun YJ, Park SJ, Kim TH, et al. 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. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(4):926-934.e6. DOI:10.1016/j.jaci.2014.03.033
20. Cao Y, Chen F, Sun Y, et al. LL-37 promotes neutrophil extracellular trap formation in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Clin Exp Allergy*. 2019;49(7):990-999. DOI:10.1111/cea.13408
21. Delemarre T, Holtappels G, De Ruyc N, et al. A substantial neutrophilic inflammation as regular part of severe type 2 chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol*. 2021;147(1):179-88.e2. DOI:10.1016/j.jaci.2020.08.036

Статья поступила в редакцию / The article received: 23.05.2024

Статья принята к печати / The article approved for publication: 27.09.2024



OMNIDOCTOR.RU