

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М. І. ПИРОГОВА
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ОНИЩЕНКО АНАТОЛІЙ ІГОРОВИЧ

УДК: 616.211/.216 – 036.12 – 078: 57.088.6 (043.3)

ДИСЕРТАЦІЯ

**РОЛЬ ПРОФІБРОТИЧНИХ, ПРОЗАПАЛЬНИХ ТА
ПРООКСИДАНТНИХ ЧИННИКІВ В БІОХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМАХ
РОЗВИТКУ ХРОНІЧНИХ РИНОСИНУСИТІВ**

14.01.32 – медична біохімія

22 – охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ Оніщенко А.І.

Науковий керівник – **Наконечна Оксана Анатоліївна**, доктор медичних наук, професор

Харків – 2019

АНОТАЦІЯ

Онiщенко А. І. Роль профiбротичних, прозапальних та прооксидантних чинників в бiохiмiчних механiзмах розвитку хронiчних риносинуситiв. – Квалiфiкацiйна наукова праця на правах рукопису.

Дисертацiя на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктор фiлософiї) за спецiальнiстю 14.01.32 «Медична бiохiмiя» (22 – охорона здоров'я). – Харкiвський нацiональний медичний унiверситет МОЗ України, Харкiв, 2019; Вiнницький нацiональний медичний унiверситет iм. М.І. Пирогова МОЗ України, Вiнниця, 2019.

Дисертацiя присвячена дослiдженню та обґрунтуванню механiзмiв розвитку хронiчного полiпозного риносинусита (ХПР) та хронiчного гнiйного риносинусита (ХГР) у стадiї загострення, а також виявленню нових потенцiйних дiагностичних маркерiв риносинуситiв.

Обстеження проводились на базi Харкiвського нацiонального медичного унiверситету та оториноларингологiчного вiддiлення КЗОЗ «ОКЛ ЦЕМД та МК» м. Харкова. Всього було обстежено 103 хворих, з них 51 мали дiагноз ХПР та у 52 хворих дiагностувався ХГР у стадiї загострення. Група контролю складалась з 50 умовно здорових людей з викривленням носової перетинки.

Обстеження хворих проведено вiдповiдно до пунктiв Конвенцiї Ради Європи про права людини та бiомедицину (вiд 04.04.1997 р), Гельсiнкської декларацiї Всесвiтньої медичної асоцiацiї про етичнi принципи проведення наукових медичних дослiджень за участю людини (1964-2000 рр.), наказу МОЗ України № 281 вiд 01.11.2000 р та у згодi з комiсiєю з етики та бiоетики ХНМУ, протокол № 6 вiд 2018 р.

У ходi дослiдження показано, що розвиток ХПР та ХГР у стадiї загострення супроводжується пiдвищенням основних показникiв оксидантної системи: вiмiсту 8-iзопростану в сироватцi кровi (вiдповiдно у 1,8 та 2,2 рази, $p < 0,001$ та $p < 0,0001$), ТБК-активних продуктiв у 1,6 раз та 1,9 рази вiдповiдно ($p < 0,0001$ й $p < 0,0001$), а також дiєнових кон'югат (ДК) у

1,65 та 2,10 рази відповідно ($p < 0,001$ та $p < 0,001$), на фоні зниження загальної антиоксидантної активності (ЗАА) крові на відповідно 21,2% та 39,4% ($p < 0,05$ та $p < 0,01$) у порівнянні з контрольною групою, що вказує на розвиток оксидативного стресу, який є більш вираженим при гнійній формі захворювання.

Метод флуоресцентних зондів дозволив вперше встановити, що при обох формах хронічного риносинуситу спостерігаються схожі зміни з боку фосфоліпідного бішару мембран еритроцитів. Встановлено, що при ХПР та ХГР спостерігається збільшення ступеня гідратації найбільш полярної області цитоплазматичної мембрани еритроцита: області полярних головок фосфоліпідів. Також показано, що в організмі хворих на ХПР та ХГР відбувається збільшення гідратації найбільш полярної області мембрани клітин епітелію слизової оболонки носа: області полярних головок фосфоліпідів.

У роботі показано, що розвиток ХГР та ХПР супроводжується змінами цитокінового та хемокінового профілів сироватки крові. У хворих на обидві форми захворювання спостерігалось підвищення вмісту прозапальних цитокінів ФНП- α у 3,6 та 1,9 рази відповідно ($p < 0,001$ та $p < 0,001$), ІЛ-1 β у 2,8 та 2,6 рази відповідно ($p < 0,001$ та $p < 0,001$) й ІЛ-12 у 2,3 та 2,6 рази ($p < 0,001$ та $p < 0,001$) у сироватці крові у порівнянні з контролем. Сироваткова концентрація хемокіну ІЛ-8 збільшувалась у 3,6 рази ($p < 0,05$) при загостренні ХГР та зменшувалась у 2,65 рази ($p < 0,05$) при ХПР у порівнянні з контрольною групою. При ХГР та ХПР також спостерігався вищий сироватковий вміст хемокінів: фракталкіну у 3,4 та 2,6 рази відповідно ($p < 0,001$ та $p < 0,001$) та МСР-1 (у 8,8 та 6,9 разів відповідно, $p < 0,001$ та $p < 0,001$) у порівнянні з контрольною групою. У той же час при ХПР та ХГР у стадії загострення немає достовірних змін ($p > 0,05$) протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10 у сироватці крові у порівнянні з умовно здоровими людьми.

Встановлено, що дисбаланс між профібротичними та антифібротичними факторами на користь перших характерний як для ХГР, так і ХПР. Обидві форми характеризуються підвищенням вмісту протеолітичного ферменту ММП-9 у сироватці крові у 2,4 та 1,5 рази відповідно ($p < 0,001$ та $p < 0,05$) та збільшенням коефіцієнту МСР-1/МПП-9 у 3,7 та 4,7 рази відповідно. Порівняльний аналіз експресії віментину у тканинах синоназального тракту хворих на ХГР у стадії загострення та ХПР показав, що більш інтенсивна експресія віментину як у стромі, так у шарі назального епітелію спостерігається при поліпозній формі. Гіперекспресія віментину в епітеліальних клітинах порожнини носа свідчить про активацію епітеліально-мезенхімальної трансформації, що відіграє важливу роль в патогенезі захворювання.

Аналіз видів клітинної смерті лейкоцитів периферичної крові методом проточної цитометрії показав, що для загострення ХГР характерне 5,5-кратне підвищення кількості ранньоапоптотичних лейкоцитів крові у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,0001$) та двократне підвищення пізньоапоптотичних/некротичних клітин ($p < 0,001$). При ХПР відсоток ранньоапоптотичних лейкоцитів майже у 2,5 раз був вище у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,0001$), що вказує на активацію апоптозу лейкоцитів при обох формах хронічного риносинуситу.

Проведені дослідження поглиблюють сучасні уявлення про патогенез хронічного риносинуситу та окреслюють нові біохімічні маркери діагностики та лікування хронічних риносинуситів. Розроблена нова модель діагностики хронічного риносинуситу на базі використання флуоресцентних зондів.

Ключові слова: хронічний гнійний риносинусит, хронічний поліпозний риносинусит, віментин, цитокіни, флуоресцентні зонди, оксидативний стрес, апоптоз, проточна цитометрія.

SUMMARY

Onishchenko A.I. The role of profibrotic, proinflammatory and prooxidant factors in the biochemical mechanisms of chronic rhinosinusitis development. A qualification research paper provided as a manuscript.

Thesis for a scientific degree of the candidate of medical sciences in speciality 14.01.32 “Medical biochemistry” (22 Healthcare). – Kharkiv National Medical University, Ministry of Public Health of Ukraine, Kharkiv, 2019; National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ministry of Public Health of Ukraine, Vinnytsya, 2019.

The research was carried out on the basis of the Kharkiv National Medical University and the Otorhinolaryngology Department of the Kharkiv Regional Hospital. A total of 103 patients were enrolled. Fifty one patients had a diagnosis of CRSwNP, while fifty two patients were diagnosed with CRSsNP in the stage of exacerbation. The control group consisted of 50 conventionally healthy subjects with deviated nasal septum.

Examination of patients was conducted in accordance with the provisions of the Convention of the Council of Europe on Human Rights and Biomedicine (April 04, 1997), the World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects (1964-2000), the order of the Ministry of Health of Ukraine No. 281 dated November 01, 2000 and in agreement with the Commission on Ethics and Bioethics of the KhNMU, No. 6 2018.

In this study, it was shown that the development of CRSwNP and CRSsNP is accompanied by an increase in the content of 8-isoprostan in serum (1.8 and 2.2 times, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$, respectively), TBA-reactive substances (1.6-fold and 1.9-fold, $p < 0.0001$ and $p < 0.0001$, respectively), as well as conjugated dienes (1.65-fold and 2.1-fold, $p < 0.001$ and $p < 0.001$, respectively), against the background reduced blood total antioxidant activity by 21.2% and 39.4%, respectively ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) compared with control

subjects, indicating the development of oxidative stress, which is more pronounced in CRSsNP.

The method of fluorescent probes allowed finding for the first time that in both forms of chronic rhinosinusitis there are similar changes in the phospholipid bilayer of erythrocyte membranes. CRSsNP and CRSwNP were found to be associated with an increase in the degree of hydration of the most polar region of the erythrocyte cytoplasmic membrane, namely polar heads of phospholipids. It was shown that CRSsNP and CRSwNP were accompanied by an increase in hydration of the most polar region of the membrane of nasal epithelial cells: phospholipid polar heads.

In this study, it was demonstrated that the development of CRSsNP and CRSwNP is accompanied by changes in the serum cytokine and chemokine profiles. In patients with both forms of the disease, an increase in the content of proinflammatory cytokines TNF- α by 3.6 and 1.9 times, respectively ($p < 0.001$ and $p < 0.001$) was found. IL-1 β levels were 2.8 and 2.6 times elevated ($p < 0.001$ and $p < 0.001$, respectively), whereas IL-12 concentrations were 2.3 and 2.6-fold higher ($p < 0.001$ and $p < 0.001$) in serum compared with controls. Serum chemokine IL-8 concentration increased 3.6-fold ($p < 0.05$) in exacerbation of CRSsNP and decreased 2.65-fold ($p < 0.05$) in CRSwNP compared with the control group. In both CRSsNP and CRSwNP, a higher serum content of fractalkine was observed (3.4-fold and 2.6-fold, $p < 0.001$ and $p < 0.001$, respectively) and MCP-1 (almost 9 and 7 times, $p < 0.001$ and $p < 0.001$) compared with the control group. At the same time, no significant changes ($p > 0.05$) were found in the content of anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-10 in blood serum compared with conventionally healthy individuals.

It was found that the imbalance between pro-fibrotic and anti-fibrotic factors in favor of the former is characteristic of both CRSsNP and CRSwNP. Both forms are characterized by an increase in the content of the proteolytic enzyme MMP-9 in serum (2.4-fold and 1.5-fold, $p < 0.001$ and $p < 0.05$, respectively) and an increase in the MCP-1 / MMP-9 ratio in 3.7 and 4.7 times,

respectively. A comparative analysis of vimentin expression in sinonasal tissues of patients with CRSsNP in the stage of exacerbation and CRSwNP showed that a stronger vimentin expression in both the stroma and nasal epithelium is observed in patients with nasal polyps. Vimentin overexpression in nasal epithelial cells indicates the activation of the epithelial-to-mesenchymal transition, which plays an important role in the pathogenesis of the disease.

Analysis of leukocyte cell death modes by flow cytometry showed that the exacerbation of CRSsNP is characterized by a 5.5-fold increase in the number of early apoptotic blood leukocytes compared with the control group ($p < 0.0001$) and twice as high percentage of late apoptotic / necrotic cells ($p < 0.001$) as in the controls. In patients with CRSwNP, the percentage of early apoptotic leukocytes is almost 2.5-fold higher in comparison with the control group ($p < 0.0001$), indicating the activation of leukocyte apoptosis in both forms of chronic rhinosinusitis.

Findings of this study deepen the modern understanding of the CRSsNP and CRSwNP pathogenesis and outline new biochemical markers for diagnosis and treatment of chronic rhinosinusitis. A new model for the diagnosis of chronic rhinosinusitis based on the use of fluorescent probes has been developed.

Key words: chronic rhinosinusitis without nasal polyps, chronic rhinosinusitis with nasal polyps, vimentin, fluorescent probes, oxidative stress, apoptosis, flow cytometry.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Наконечная О. А., **Онищенко А. И.**, Горбач Т. В., Ткаченко А. С., Чубукова Т. Н. Содержание некоторых хемокинов в сыворотке крови пациентов с обострением хронического гнойного риносинюита // Проблемы здоровья и экологии. 2017. №2(52). С. 30–33. (Особистий внесок – проаналізував літературу, провів визначення біохімічних показників, брав участь в аналізі і узагальненні одержаних результатів, статистично опрацював, підготував до друку).

2. **Onischenko A. I.**, Nakonechna O. A., Tkachenko A. S., Kalashnik Yu. M. The content of MCP-1 and MMP-9 in blood serum of patients with chronic polypoid rhinosinusitis // The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University Series «MEDICINE». 2017. №33. P. 23–26. (Особистий внесок – проаналізував літературу, визначив біохімічні показники, брав участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистично опрацював, підготував публікацію до друку).

3. **Онищенко А. И.**, Наконечная О. А., Ткаченко А. С. Изменения содержания мелатонина и ИЛ-12 в сыворотке крови больных хроническим полипозным риносинюитом // Буковинський медичний вісник. 2017. Т.21, №2. С. 75–77. (Особистий внесок – проаналізував літературу, провів визначення біохімічних показників, брав участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистично опрацював, підготував публікацію до друку).

4. **Онищенко А. И.**, Наконечная О. А., Ткаченко А. С. Информативность определения содержания сывороточного моноцитарного хемоатрактантного белка-1 (MCP-1) при хроническом гнойном риносинюите // Вестник КазНМУ. 2017. №4. С. 134–136. (Особистий внесок – проаналізував літературу, провів визначення біохімічних показників, брав

участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистично опрацював, підготував публікацію до друку).

5. **Оніщенко А. І.** Діагностичне значення вмісту інтерлейкіну-12 у крові хворих на хронічний поліпозний риносинусит // Український журнал медицини, біології та спорту. 2017. № 4(6). С. 98–101.

6. **Онищенко А. И.,** Наконечная О. А., Ткаченко А. С., Корниенко Е. М., Горбач Т. В., Бондаренко В. А., Посохов Е. А., Дорошенко А. О. Исследование мембран эритроцитов при хроническом полипозном риносинусите методом флуоресцентных зондов // Український журнал медицини, біології та спорту. 2018. Т 3, № 1(10). С. 169–173. (Особистий внесок – проаналізував літературу, брав участь у визначенні біохімічних показників, аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистичному опрацюванні, підготував публікацію до друку).

7. **Оніщенко А. І.,** Наконечна О. А., Ткаченко А. С., Корнієнко Є. М., Ткачова Т. М., Єфімова С. Л., Рищенко І. М., Циганков О. В., Посохов Є. О. Дослідження цитоплазматичних мембран клітин епітелію слизової оболонки носа у хворих на хронічний гнійний риносинусит методом флуоресцентних зондів // Український журнал медицини, біології та спорту. 2017. Т 3, № 7(16). С. 135–139. (Особистий внесок – проаналізував літературу, брав участь у визначенні біохімічних показників, аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистичному опрацюванні, підготував публікацію до друку).

8. **Оніщенко А. І.,** Наконечна О. А., Ткаченко А. С., Калашник Ю. М., Корнієнко Є. М., Стеценко С. О., Посохов Є. О., Дорошенко А. О. Дослідження еритроцитів при хронічному гнійному риносинуситі у стадії загострення методом флуоресцентних зондів // Буковинський медичний вісник. 2018. Т. 22, № 1(85). С. 79–85. (Особистий внесок – проаналізував літературу, провів визначення біохімічних показників, брав участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистично опрацював, підготував публікацію до друку).

9. **Онищенко А. И.** Окислительный стресс и матриксная металлопротеиназа-9 при обострении хронического гнойного риносинусита // Український журнал медицини, біології та спорту. 2018. Т. 3, № 6(15). С. 129–133.

10. **Onishchenko A. I.,** Lupyr A. V., Tkachenko A. S., Gorbach T. V., Nakonechna O. A., Gubina-Vakulyck G. I. Epithelial-to-mesenchymal transition and some parameters of extracellular matrix remodeling in chronic rhinosinusitis with nasal polyps // HVM Bioflux. 2018. Vol. 10. №3. P. 128–132. (Особистий внесок – проаналізував літературу, брав участь у проведенні морфологічного дослідження, у визначенні біохімічних показників, провів аналіз результатів, статистично опрацював, підготував публікацію до друку).

11. Наконечная О. А., **Онищенко А. И.** Содержание интерлейкина-8 и матриксной металлопротеиназы-9 в крови больных с обострением хронического гнойного и полипозного риносинусита // Актуальные проблемы медицины : сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 26-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета, 3–4 ноября 2016 г., Гомель. 2016. С. 536–539. (Виконав біохімічні дослідження, статистичний аналіз та узагальнення матеріалу, написання тез).

12. Набатян К. А., **Оніщенко А. І.,** Нечипорук І. А., Ткаченко А. С. Вміст фракталкіна в сироватці крові хворих з загостренням хронічного гнійного риносинусита // Хист. 2017. Вип. 19. С. 55. (Виконав біохімічні дослідження, статистичний аналіз, написання тез).

13. **Оніщенко А. І.** Активність матриксної металопротеїнази-9 у хворих з загостренням хронічного гнійного риносинусита // Актуальні проблеми клінічної та фундаментальної медицини : збірник науково-практичної конференції, 14 квітня 2017 р., Харків. 2017. С. 154–155.

14. **Онищенко А. И.** Содержание фракталина и ИЛ-8 у больных хроническим гнойным риносинуситом // Актуальні проблеми сучасної хімії:

Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих науковців, 20–22 квітня 2017р., Миколаїв. 2017. С. 54–55.

15. **Онищенко А. И.** Содержание матриксной металлопротеиназы-9 у больных хроническим полипозным риносинуситом // Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини: тези доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю з дня народження І. Г. Герцена, 27–28 квітня 2017р., Одеса. 2017. С. 36.

16. **Онищенко А. И.,** Калашник Ю. М. Содержание интелейкина-12 в сыворотке крови больных хроническим полипозным риносинуситом // Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии : сборник материалов III Конференции молодых ученых биохимиков и молекулярных биологов с международным участием, 11–12 мая 2017 г., Гродно. 2017. С. 95–96. (Виконав біохімічні дослідження, статистичний аналіз та узагальнення матеріалу, написання тез).

17. **Оніщенко А. І.,** Набатян К. А., Нечипорук І. А. Зміни сироваткової MMP-9 у хворих на хронічний поліпозний риносинуїт // Актуальні проблеми експериментальної і клінічної біохімії : матеріали VI Міжвузівської навчально-практичної конференції з міжнародною участю, 22 травня 2017р., Харків. 2017. С. 17–18. (Виконав біохімічні дослідження, статистичний аналіз, написання тез).

18. **Оніщенко А. І.,** Ткаченко А. С. Визначення факторів, що впливають на диференціювання незрілих CD4+ клітин у хворих на хронічний поліпозний риносинуїт // Здобутки клінічної та експериментальної медицини: Підсумкова LX науково-практична конференція, 17 червня 2017р., Тернопіль. 2017. С. 204–205. (Виконав біохімічні дослідження, статистичний аналіз, написання тез).

19. **Onishchenko A.** Diagnostic significance of serum interleukin-12 determination in patients with exacerbation of chronic purulent rhinosinusitis // 8th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry, 18–20 september 2017. Lublin. 2017. P. 68.

20. Наконечна О. А., **Онiщенко А. І.**, Ткаченко А. С. Дiагностичне значення iнтерлейкiну-12 при загостреннi хронiчного гнiйного риносинуйту // Актуальнi проблеми сучасної бiохiмiї та клiнiчної бiологiї : матерiали IV Мiжнародної наукової конференцiї, 5–6 жовтня 2017 р., Днiпро. 2017. С. 60–61. (Брав участь у виконаннi бiохiмiчних дослiджень, статистичному аналізі та узагальненнi матерiалу, написаннi тез).

21. **Онiщенко А. І.** Содержание CX3CL1 в сыворотке крови больных с хроническим полипозным риносинуситом // Актуальнi питання клiнiчної медицини : матерiали XI Всеукраїнської науково-практичної конференцiї молодих вчених, 27 жовтня 2017р., Запорiжжя. 2017. С. 50–51.

22. **Онiщенко А. І.** Использование моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1) в качестве диагностического маркера хронического полипозного риносинуйта // Актуальные проблемы медицины: сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 27-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета, 2–3 ноября 2017г., Гомель. 2018. С. 582–583.

23. **Онiщенко А. І.**, Посохов Є. О., Ткаченко А. С., Корнiєнко Є. М. Оцiнка стану лiпiдного бiшару мембран еритроцитiв при хронiчному полiпозному риносинуситi: дослiдження за допомогою флуоресцентного зонда RH7 // Медицина третього тисячолiття : збiрник тез мiжвузiвської конференцiї молодих вчених та студентiв, 22–24 сiчня 2018 р., Харкiв. 2018. С. 51. (Брав участь у виконаннi бiохiмiчних дослiджень, статистичному аналізі та узагальненнi матерiалу, написаннi тез).

24. **Онiщенко А. І.**, Ткаченко А. С., Моiсеєнко Л. В., Иншина Є. О. Вмiст 8-iзопростану у сироватцi кровi при хронiчному гнiйному риносинуситi // Актуальнi проблеми сучасної хiмiї: Матерiали II Всеукраїнської науково-практичної конференцiї студентiв, аспiрантiв та молодих науковцiв, 24–25 травня 2018р., Миколаiв. 2018. С. 75–76. (Виконав бiохiмiчнi дослiдження, статистичний аналіз, написання тез).

25. **Онщенко А. І.** Оцінка відсотка ранньоапоптотичних, пізньоапоптотичних / некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів у хворих на хронічний поліпозний риносинусит // Актуальні питання лабораторної медицини: Матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів, 20–21 листопада 2018р., Харків. 2018. С. 67.

ЗМІСТ

	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	17
ВСТУП.....	18
Розділ 1. МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ТА СУЧАСНІ ДІАГНОСТИЧНІ КРИТЕРІЇ ХРОНІЧНОГО РИНОСИНУСИТУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	
1.1. Сучасні уявлення про етіопатогенез хронічного риносинуситу	26
1.2. Сучасні уявлення про діагностику та лікування хронічних риносинуситів	42
Розділ 2. МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1. Характеристика об'єкту дослідження	47
2.2. Забір матеріалу, показники, що досліджуються, та методи їх виміру.....	48
2.3. Статистична обробка отриманих даних.....	53
Розділ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ЛІПІДНОЇ ПЕРОКСИДАЦІЇ, СТАНУ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА СТРУКТУРНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ФОСФОЛІПІДНИХ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПОЛІПОЗНИЙ ТА ГНІЙНИЙ РИНОСИНУСИТ У СТАДІЇ ЗАГОСТРЕННЯ	
3.1. Оцінка вираженості процесів ліпідної пероксидації у пацієнтів з хронічними риносинуситами	54
3.2. Стан антиоксидантної системи при хронічному поліпозному та гнійному риносинуситі	57
3.3. Оцінка стану мембран еритроцитів методом флуоресцентних зондів	60

3.4. Оцінка стану мембран епітелію синоназального тракту методом флуоресцентних зондів	64
--	----

Розділ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ ЦИТОКІНОВОГО ТА ХЕМОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ СИРОВАТКИ КРОВІ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПОЛІПОЗНИЙ ТА ГНІЙНИЙ РИНОСИНУСИТ У СТАДІЇ ЗАГОСТРЕННЯ

4.1. Вивчення спектру прозапальних цитокінів та хемокінів сироватки крові при гнійній та поліпозній формі хронічного риносинуситу	70
4.2. Вивчення спектру протизапальних цитокінів сироватки крові при ХГР у стадії загострення та ХПР.....	81

Розділ 5. ВИВЧЕННЯ КОМПОНЕНТІВ СИСТЕМИ ФІБРОЗУ/АНТИФІБРОЗУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПОЛІПОЗНИЙ ТА ГНІЙНИЙ РИНОСИНУСИТ У СТАДІЇ ЗАГОСТРЕННЯ

5.1. Вміст профібротичних та антифібротичних біохімічних маркерів у сироватці крові хворих на хронічний поліпозний та гнійний риносинусит у стадії загострення	87
5.2. Морфологічна та імуногістохімічна оцінка інтенсивності процесів фіброзу у пацієнтів з ХПР	91
5.3. Морфологічна та імуногістохімічна оцінка інтенсивності процесів фіброзу у пацієнтів з ХГР у стадії загострення	96

Розділ 6. ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДІВ КЛІТИННОЇ СМЕРТІ ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ РИНОСИНУСИТИ

6.1. Дослідження видів та стадій клітинної смерті лейкоцитів у хворих на ХГР у стадії загострення	104
---	-----

6.2. Дослідження видів та стадій клітинної смерті лейкоцитів у хворих на ХПР	110
Розділ 7. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ...	115
ВИСНОВКИ.....	121
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	123
ДОДАТКИ	159

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АОС – антиоксидантна система

АФК – активні форми кисню

ДК – дієнові кон'югати

ЕМП – епітеліально-мезенхімальний перехід

ІЛ – інтерлейкін

ЗАА – загальна антиоксидантна активність

КТ – комп'ютерна томографія

ММП-9 – матрична металопротеїназа-9

МРТ – магнітно-резонансна томографія

ОС – оксидативний стрес

ПОЛ – перекисне окислення ліпідів

СОД – супероксиддисмутаза

ТБК – тіобарбітурова кислота

ТІМП – тканинний інгібітор металопротеїназ

ФНП – фактор некрозу пухлин

ХГР – хронічний гнійний риносинусит

ХПР – хронічний поліпозний риносинусит

МСР-1 – моноцитарний хемоатрактантний протеїн -1

TGF- β – трансформуючий фактор росту бета

ВСТУП

Актуальність теми.

Хронічний риносинусит (ХРС) характеризується довготривалим запальним ураженням синопазального тракту. Дана патологія є однією з найбільш поширених в Україні та світі й зустрічаються у 5-15% населення розвинених країн [94; 111]. Однак, справжня кількість хворих на дану патологію є більшою, адже часто запальні процеси у біляносових пазухах проходять латентно, що ускладнює діагностику захворювання [44]. Поряд з високою розповсюдженістю хронічних риносинуситів чітко визначається тенденція до збільшення частоти захворюваності серед населення. Показано, що за останнє десятиріччя кількість хворих на синусити збільшилась вдвічі [9].

В залежності від ендоскопічної картини виділяють дві форми хронічного риносинуситу – поліпозну та без назальних поліпів [76; 153], діагностика яких проводиться з використанням клінічних та інструментальних методів. Важливою проблемою сьогодення є недостатня розробка клініко-лабораторних тестів та критеріїв оцінки важкості хронічних риносинуситів, що до певної міри зумовлено невирішеністю питань патогенезу розвитку цих захворювань.

За даними літератури суттєву роль в етіопатогенезі ХРС відіграють бактеріальна та грибова колонізація порожнини носа та синусів, розлади імунної функції епітелію верхніх дихальних шляхів, індукція запальної реакції, порушення мукоциліарного кліренсу, зміни в експресії про- та протизапальних цитокінів [79; 80; 96].

Однією з ключових ланок патогенезу будь-якого хронічного запалення є активація процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів, що розвивається на тлі дисбалансу в системі ферментативної та неферментативної ланок про- та антиоксидантної систем [196; 212]. Поряд з

цим за даними експериментальних та клінічних досліджень показано, що на тлі хронічного запалення часто виникає дисбаланс між про- та антифібротичними факторами [60; 248], що супроводжується зміною зі сторони екстрацелюлярного матриксу, інтенсифікацією проліферативних процесів та розвитком фіброзу [56; 263]. Однак, роль цих патогенетичних чинників у розвитку різних форм хронічного риносинуситу залишається невивченою.

Тому, поглиблені дослідження молекулярних механізмів розвитку різних форм хронічних риносинуситів, а саме ролі про- та антифібротичних факторів, різних видів клітинної смерті (апоптозу/некрозу), оксидантно-антиоксидантної системи, порушень в системі регуляції імунної відповіді, є актуальним завданням сучасної медичної біохімії та оториноларингології, адже це дозволить ідентифікувати нові важливі біохімічні маркери для діагностики даної патології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертацію виконано згідно з НДР Харківського національного медичного університету «Вивчення та моделювання гострих та хронічних патологічних процесів ЛОР-органів для підвищення ефективності їх лікування», № державної реєстрації 0116U004985.

Мета і завдання дослідження

Мета дослідження – встановити роль оксидативного стресу, фіброзу, імунозапальних порушень, апоптозу та некрозу лейкоцитів у механізмах розвитку хронічних риносинуситів і на цій основі запропонувати нові біохімічні маркери для діагностики захворювання.

Завдання дослідження:

1. Дослідити інтенсивність процесів ліпідної пероксидації та стан антиоксидантної системи у хворих на хронічний гнійний та хронічний поліпозний риносинусити (ХГР та ХПР).
2. Оцінити стан мембран еритроцитів та епітелію синопозального тракту хворих на ХГР та ХПР за допомогою флуоресцентних зондів.
3. Дослідити вміст цитокінів та хемокінів у сироватці крові хворих на ХПР та ХГР у стадії загострення.
4. Вивчити особливості стану системи фіброз/антифіброз у пацієнтів з хронічним риносинуситом.
5. Дослідити експресію білку мезенхімальних клітин віментину, морфологічні особливості поліпів та слизової оболонки синопозального тракту у хворих на ХПР та ХГР.
6. Оцінити значення апоптозу лейкоцитів у розвитку різних форм хронічних риносинуситів.

Об'єкт дослідження: молекулярні механізми розвитку хронічного поліпозного та хронічного гнійного риносинуситу у стадії загострення.

Предмет дослідження: біохімічні показники ліпідної пероксидації, стан антиоксидантної системи, вміст цитокінів та хемокінів, стан мембран еритроцитів та епітелію синопозального тракту, вміст моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 (MCP-1) та матриксної металопротеїнази-9 (ММП-9), експресія віментину, активність апоптозу лейкоцитів..

Методи дослідження: клініко-лабораторні, біохімічні, морфологічні, імуногістохімічні, метод флуоресцентних зондів, метод проточної цитометрії, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів

Проведено комплексне дослідження біохімічних механізмів розвитку різних форм хронічних риносинуситів. Встановлено, що ХГР та ХПР супроводжуються розвитком оксидативного стресу – зростає в 1,6-2,2 рази вміст продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ): ТБК-активних продуктів, дієнових кон'югатів, 8- ізопростану на тлі зниження загальної антиоксидантної активності крові на 21,2- 39,4% та сироваткового рівня мелатоніну в 2,27-3,0 рази, порівняно з контролем.

Вперше за допомогою флуоресцентних зондів доведено, що розвиток ХГР та ХПР викликає зміни стану мембран клітин синопназального тракту та еритроцитів, а саме реєструється зростання ступеня гідратації в області полярних голівок фосфоліпідів.

Встановлено особливості продукції імунзапальних медіаторів за різних форм ХРС. Вперше показано, що при обох формах ХРС реєструється вірогідне з підвищення сироваткової концентрації ІЛ-12, ФНП- α , ІЛ-1 β , фракталіну (в 2-3,6 рази) на тлі зростання в сироватці крові рівня ІЛ-8 при ХГР та зниження його вмісту при ХПР.

Доведено, що ХРС асоціюється з порушенням процесів ремоделювання позаклітинного матриксу синопназального тракту. При обох формах ХРС реєструється вірогідне зростання в сироватці крові вмісту профібротичного фактору МСР-1 (в 6,9-8,8 рази) та антифібротичного фактору ММП-9 (в 1,5-2,4 рази). За цих умов достовірно збільшується співвідношення МСР-1/ММП-9 (в 3,7 рази за гнійної форми та 4,7 рази за поліпозної форми), що свідчить про активацію процесів проліферації та фіброзу сполучної тканини.

Вперше показано, що різні форми ХРС, особливо ХПР, супроводжуються зростанням експресії віментину в клітинах назального епітелію, що свідчить про розвиток епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП). З'ясовані відмінності в активності апоптозу лейкоцитів при різних формах ХРС: за ХГР зростає кількість ранньо- та пізньоапоптичних

лейкоцитів відповідно в 5,5 та 2,3 рази, а за ХПР – лише кількість ранньоапоптотичних клітин у 2,4 рази, порівняно з контролем.

Практичне значення одержаних результатів

Проведене дослідження поглиблює сучасні уявлення про біохімічні механізми розвитку ХРС, а саме ролі оксидативного стресу, фіброзу, імунозапальних порушень, апоптозу в пошкодженні клітин синоназального тракту.

Патогенетично обґрунтовано доцільність визначення рівня прозапальних цитокінів (фракталкіну, ІЛ-8, ІЛ-12), співвідношення МСР-1/ММП-9, а також застосування флуоресцентних зондів RH7 та 010 з метою діагностики різних форм хронічних риносинуситів.

Отримані результати впроваджено у навчально-педагогічний процес кафедри медичної, біоорганічної та біологічної хімії Української медичної стоматологічної академії, кафедри отоларингології Харківського національного медичного університету та практичну роботу отоларингологічного відділення Комунальне неприбуткове підприємство Харківської обласної ради «Обласна клінічна лікарня» м. Харкова, Комунальний заклад охорони здоров'я Зміївської центральної районної лікарні.

Особистий внесок здобувача

Дисертантом обґрунтовано концепцію роботи, визначено мету, завдання, об'єкти дослідження, обрано комплекс методів, які використовували, проведено аналіз одержаних результатів та підготовлені матеріали до друку. Експериментальні дані, представлені в дисертації, одержані особисто автором. Дисертант самостійно статистично обробив та проаналізував отримані результати. Дослідження стану мембран еритроцитів та епітелію слизової оболонки носу було проведено в Інституті сцинтиляційних матеріалів Національної академії наук України, а

визначення видів клітинної смерті лейкоцитів периферичної крові в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. Морфологічні дослідження було проведено разом із професором Губіною-Вакулик Г.І. (Харківський національний медичний університет). У дисертації не використовували ідей або концепції, які належать співавторам опублікованих наукових праць.

Апробація результатів роботи

Матеріали дисертацій повідомлені і обговорені на Республіканській науково-практичній конференції «Актуальные проблемы медицины» и 26-й підсумковій науковій сесії «Гомельского государственного медицинского университета (м. Гомель, Республіка Білорусь, 3–4 листопада 2016 р.), IV Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих вчених «ВІМСО» (м. Чернівці, Україна, 05-07 квітня 2017р.), науково-практичній конференції «Актуальні проблеми клінічної та фундаментальної медицини» (м. Харків, Україна, 13-14 квітня 2017р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної хімії» (м. Миколаїв, Україна, 20-22 квітня 2017р.), науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю з дня народження І. Г. Герцена «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини» (для студентів та молодих вчених) (м. Одеса, Україна, 27-28 квітня 2017р.), III Конференції молодих вчених біохіміків і молекулярних біологів з міжнародною участю «Сучасні проблеми біохімії та молекулярної біології» (м. Гродно, Республіка Білорусь, 11-12 травня 2017р.), міжвузівській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії» (м. Харків, Україна, 22 травня 2017 р.), підсумковій X науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (присвячена 60-річчю ТДМУ) (м. Тернопіль, Україна, 14 червня 2017 р.), 8-й конференції з експериментальної і клінічної

біохімії (м. Люблін, Польща, 18-20 вересня 2017р.), IV Міжнародній науковій конференції «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клінічної біології» (м. Дніпро, Україна, 5–6 жовтня 2017р.), XI Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні питання клінічної медицини» (м. Запоріжжя, Україна, 27 жовтня 2017р.), Республіканській науково-практичній конференції «Актуальные проблемы медицины» и 27-й підсумковій науковій сесії «Гомельского государственного медицинского университета (м. Гомель, Республіка Білорусь, 2–3 листопада 2017р.), міжвузівській конференції молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 22-24 січня 2018 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної хімії» (м. Миколаїв, Україна, 24-25 травня 2018р.), науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів «Актуальні питання лабораторної медицини» (м. Харків, Україна, 20-21 листопада 2018р.), науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів «Актуальні питання лабораторної медицини» (м. Харків, Україна, 20-21 листопада 2018р.).

Публікації

За матеріалами дисертації опубліковано 25 наукових робіт, у тому числі 10 статей (7 у фахових журналах України та 3 надрукована у закордонних фахових виданнях, з яких одна в журналі, що індексується в базі Scopus). Результати роботи також представлені у 15 тезах в збірниках матеріалів наукових конференцій України та інших країн.

Структура і обсяг роботи

Матеріали роботи презентовані на 166 сторінках машинописного тексту та складаються зі вступу, аналітичного огляду літератури, матеріалів та методів та п'яти розділів власних досліджень, обговорення та

узагальнення отриманих результатів, переліку використаних джерел літератури, що включає 277 джерел (з них 46 – кирилицею, 231 – латиницею) та додатків. Перелік використаної літератури займає 36 сторінок. Дисертація включає 7 таблиць, 28 рисунків.

РОЗДІЛ 1

МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ТА СУЧАСНІ ДІАГНОСТИЧНІ КРИТЕРІЇ ХРОНІЧНОГО РИНОСИНУСИТУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Сучасні уявлення про етіопатогенез хронічного риносинуситу

Хронічний риносинусит характеризується тривалим запаленням слизової оболонки носа та навколоносових пазух [115, 153, 255]. Найбільш поширеними симптомами захворювання є виділення з носа, обструкція носових ходів, зниження нюхової функції та болі в області біля носових пазух [153]. Для верифікації діагнозу, два з чотирьох згаданих вище симптомів повинні зберігатися як мінімум 3 місяці [153]. Поширеність хронічного риносинуситу в розвинених країнах досить висока і знаходиться в діапазоні від 4,5% до 12% за різними оцінками [94].

За даними деяких авторів, поширеність захворювання в певних регіонах світу (наприклад, в Південній Америці) досягає 16,55% [62]. Вважається, що середня розповсюдженість хронічного риносинуситу, виходячи з діагностичних критеріїв Європейського позиційного документу про риносинусит та носові поліпи (European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps - EP³OS), становить 10,9% [78].

Високий рівень захворюваності населення обумовлює суттєву соціально-економічну значущість хронічного риносинуситу. За різними оцінками, прямі та непрямі витрати, пов'язані з хронічним риносинуситом, перевищують 20-22 млрд. доларів США на рік у Сполучених Штатах Америки [224, 233].

Незважаючи на останні досягнення у вивченні етіопатогенетичних чинників хронічних риносинуситів, загальна картина патогенезу захворювання все ще не зрозуміла [79; 183]. Серед факторів, які вносять вклад до етіопатогенезу хронічних риносинуситів, виділяють: бактеріальну

та грибкову колонізацію порожнини носа та синусів, зменшення різноманітності мікробіому синоназального тракту, утворення біоплівки, порушення імунної функції епітелію верхніх дихальних шляхів, порушення мукоциліарного кліренсу, зміни в експресії цитокінів та хемокінів, інтенсивне ремоделювання позаклітинного матриксу та порушення регуляції експресії генів на епігенетичному рівні [79, 153, 198].

Довгий час було відомо, що слизова оболонка носа є домівкою для великої кількості мікроорганізмів, таких як грибки, бактерії та віруси, які зустрічаються як у людей з патологією синоназального тракту, так й у тих, у кого її не має. Проте численні дослідження демонструють важливу роль патогенів, коменсалів або пов'язаних з ними продуктів в етіології або прогресуванні запалення слизової оболонки носа та синусів [47].

Перші дані про колонізацію синоназального тракту почали з'являтися у 30-х роках ХХ століття. Було ідентифіковано багато мікроорганізмів та першим збудником вважався коагулазонегативний стафілокок [47]. У досліджах деяких авторів, які досліджували особливості мікробіоти синоназального тракту культуральними методами, показано, що найбільш часто висіювались коагулазонегативні стафілококи (31%), *H. influenzae* (25%), *S. pneumoniae* (12%), *M. catarrhalis* (10%), *P. aeruginosa* (*P. aeruginosa*) (7%), альфа-гемолітичні стрептококи (5%) та *S. aureus* (3%) [70].

Однак, за останні роки було показано, що традиційні культуральні методи не підходять для дослідження бактеріальних популяцій людини в цілому та зокрема синоназального тракту, оскільки більшість бактерій не висіваються. На даному етапі секвенування висококонсервованої 16S рРНК є ключовим методом для виявлення бактеріальних популяцій зі зразків організмів [192, 251]. У дослідженнях встановлено, що зразки при ХГР збагачені представниками видів *Streptococcus*, *Haemophilus* та *Fusobacterium* на фоні втрати різноманітності видів бактерій порівняно зі здоровими людьми. При ХПР збільшується вміст представників видів *Staphylococcus*, *Alloisococcus* й *Corynebacterium* [163]. Також дослідники наголошують на

домінуванні *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* та анаеробів, таких як *Fusobacterium* та *Prevotellaceae* при риносинуситах [85]. Продемонстроване значне підвищення кількості бактерій *H. influenzae* при ХПР у синоназальному тракті та припустили, що *H. influenzae* може ініціювати і стимулювати запальні реакції при розвитку поліпозу носа, і тому ліквідація *H. influenzae* у гострій фазі може зменшити частоту випадків розвитку поліпів [80]. Voase S et al наголошують на тому, що *S. aureus* є одним з найросповсюдженіших мікроорганізмів, що колонізує верхні дихальні шляхи у хворих на хронічний риносинусит [252]. Внесок *S. aureus* у патогенез хронічного риносинуситу виходить за межі лише колонізації слизових оболонок носа, оскільки даний мікроорганізм міститься й у верхніх дихальних шляхах здорових людей. Також в дослідках показано, що *S. aureus* частіше зустрічається у слизовій оболонці носа при ХПР порівняно з ХГР [95]. Дані факти підтверджують внесок *S. aureus* у етіопатогенез хронічного риносинуситу, особливо поліпозної форми, що свідчить про те, що ця бактерія може бути потенційною мішенню для лікування при ХПР. Однак той факт, що лікування хронічного риносинуситу тривалими курсами антибіотиків, які діють на *S. aureus*, є лише частково ефективним, а також не поліпшує багатьох симптомів, зокрема закладеність носа або втрату запаху, показує, що елімінація *S. aureus* не є достатньою для зникнення захворювання [193].

Цікаво відмітити, що при обох формах хронічного риносинуситу спостерігається зниження видової різноманітності бактерій у синоназальному тракті. Дослідження мікробіоти порожнини носа демонструють також високу таксономічну варіабельність між пацієнтами. Ця гетерогенність серед пацієнтів з хронічним риносинуситом не зрозуміла і являє собою значний бар'єр для розробки уніфікованих методів лікування захворювання [85].

Роль вірусної інфекції у патогенезі хронічних риносинуситів вивчена недостатньо. У роботі науковців при дослідженні особливостей вірусного

мікробіому у хворих на хронічний риносинусит встановлено, що скринінг на вірусну ДНК у зразках матеріалу з навколо носових пазух був позитивним у 80% хворих на ХГР та у 20% хворих на ХПР при відсутності позитивної реакції у контролю. Найбільш розповсюдженим був коронавірус [256]. Повідомлялось про те, що респіраторні віруси вдалось виявити в половині змивів та у майже двох третин зразків слизової оболонки носових раковин хворих на хронічний риносинусит. Найбільш часто виділяли риновірус [130]. Роль риновірусної інфекції при загостренні астми добре відома, і схожість між астмою та хронічним риносинуситом дозволяє припустити залученість риновірусної інфекції у розвиток хронічного риносинуситу [122]. Однак ця гіпотеза вимагає подальшого дослідження, оскільки на даному етапі не вистачає експериментальних даних.

При вивченні етіопатогенетичних аспектів хронічного риносинуситу увагу також приділять особливостям мікробіому синоназального тракту. Перші дані щодо ролі грибкової колонізації в розвитку хронічного риносинуситу з'явилися наприкінці ХХ сторіччя. Було показано, що грибки культивувались у 90% пацієнтів з хронічним риносинуситом. Однак встановлено, що майже такий самий відсоток здорових людей мають грибки у порожнині носа та навколоносових пазухах [108]. Cleland EJ et al виявили методом піросеквенування 207 родів грибків у хворих на хронічний риносинусит з превалюванням *Malassezia* [250]. У дослідженні Zhao YC et al гриби були виявлені у дев'яти з 63 (14,3%) пацієнтів з хронічним риносинуситом; решта пацієнтів та всі представники контрольної групи не мали грибкової колонізації. Найбільш розповсюдженим організмом, що визначався методом секвенування, був *Aspergillus* (35,22%). Автори відмічають, що грибковий дисбактеріоз спостерігається лише в пазухах деяких пацієнтів, і тому не може бути універсальною детермінантою патогенезу запалення навколо носових пазух [218]. Таким чином, незважаючи на нові дані щодо особливостей мікробіому порожнини носа на

навколоносових пазух, роль грибкової інфекції в патогенезі хронічного риносинуситу залишається спірною.

Незважаючи на чисельні успіхи у вивченні мікробіоти синоназального тракту та зв'язку особливостей назального мікробіому з розвитком риносинуситу, все ще залишається з'ясувати чи зміни, що спостерігаються в мікробіомі синоназального тракту, є причиною або наслідком розвитку хронічного риносинуситу. Кілька мікробних продуктів є основними факторами запалення; ліпополісахариди та молекули бактеріальної поверхні є лігандами рецепторів макрофагів, епітеліальних клітин та дендритних клітин. Крім того, базофіли, вміст яких підвищується в тканині поліпів при ХПР, мають TLR2 і форміл-метионіл-лейцил-фенілаланін рецептори, які активують ці клітини при взаємодії з мікроорганізмами і потенційно можуть бути зв'язуючою ланкою між вродженою та адаптивною імунною відповіддю при хронічних риносинуситах. Вищеописані механізми можуть пов'язувати запалення слизової оболонки, яка є характерною ознакою патогенезу ХГР та ХПР, з мікробіомом. Це обумовлює важливість вивчення особливостей мікробіома синоназального тракту та його ролі в етіопатогенезі риносинуситу [47].

Цікаво відзначити, що одним з можливих механізмів хронічної природи риносинуситу є залучення бактеріальних біоплівок, які роблять бактерій стійкими до традиційних методів лікування. Бактеріальні біоплівки - це високоорганізовані структури, що складаються зі спільнот бактерій, які оточені захисним позаклітинним матриксом [236]. Ця форма існування бактерій є превалюючою й характерна для 99% бактерій. Формування біоплівки включає декілька етапів: прикріплення клітин до поверхні та формування мікроколоній; секреція міжклітинного матриксу, який складається з полісахаридів, білків та нуклеїнових кислот й захищає бактерії від шкідливих факторів навколишнього середовища; при достатньому розширенні матриксу й біоплівки, бактерії секретують сигнальні молекули, що здатні моделювати міжклітинні взаємодії, кворум

сенсінг, відповідь на стресові фактори (зокрема, антибіотики), тощо [64]. Декілька робіт вказують на важливу роль біоплівок у синоназальному тракті хворих на хронічний риносинусит у рецидивах захворювання, неадекватній відповіді на лікування та несприятливий прогноз після хірургічних втручань [47, 71].

Długaszewska J et al продемонстрували, що 76,7 % хворих на хронічний риносинусит мали ознаки присутності біоплівок [253]. При цьому показано, що формування біоплівок у верхніх дихальних шляхах більш характерно для ХПР у порівнянні з ХГР [59]. Fastenberg JH et al. відмічають, що біоплівки при хронічному риносинуситі мають полімікробний характер та в них існують разом як бактерії, так і гриби [64]. Foreman A. et al показали, що *S. aureus* був ідентифікований у половині біоплівок хворих на хронічний риносинусит, причому *P. aeruginosa* та *H. influenza* виявлено у 22% та 28% культур, відповідно [216]. Інші види бактерій, такі як *S. viridans*, коагулаза-негативні стафілококи та *E. faecalis* також залученні в утворення біоплівок у пацієнтів з ХПР та ХГР [276].

Необхідно зазначити, що біоплівка як єдиний агент не може відповідати за розвиток симптомів хронічного риносинуситу, оскільки біоплівки також зустрічаються й у здорових людей [253]. Проте мікробні біоплівки, які захищають бактеріальні клітини від імунної системи макроорганізму та часто обумовлюють нечутливість до антимікробної терапії хронічного риносинуситу, безумовно, можуть розглядатись в якості етіопатогенетичного фактора хронічного риносинуситу та здатні обтяжувати протікання захворювання.

Важливу роль у етіопатогенезі хронічних риносинуситів відіграють вроджені порушення імунної функції епітелію дихальних шляхів. Відомо, що епітеліальні клітини верхніх дихальних шляхів відіграють одну з ключових ролей в регуляції імунної відповіді при захворюваннях дихальної системи [254]. Епітелій дихальних шляхів традиційно розглядається як структурний бар'єр на шляху інфекційних агентів та фактор, що сприяє

виділенню речовин, що вдихаються, шляхом мукоциліарного кліренсу. Проте останні дослідження показують, що епітелій дихальних шляхів динамічно змінюється і має широкий спектр активності, що пов'язані із запаленням, імунітетом, захистом організму та ремоделюванням тканин [128]. Серед засобів протимікробного та противірусного захисту, що забезпечуються клітинами епітелію та опосередковують виділення бактеріальних та інших об'єктів з верхніх дихальних шляхів, є секреція муцину, мукоциліарний транспорт, експресія toll-подібних рецепторів (toll-like receptors) на поверхні, продукція антимікробних пептидів, АФК НАДФ оксидазою, інтерферонів та аутофагія [128, 254].

Показано, що при хронічних риносинуситах спостерігаються зміни якісного та кількісного характеру в складі муцину, що впливають на його густину та захисну роль [49]. При розвитку назальних поліпів змінюється експресія декількох з 21 гена, що залучені в експресію муцинів, - високоглікозильованих лінійних та гнучких білків, що складаються з субодиниць, які з'єднані дисульфідними зв'язками. Основними муцинами, що експресуються в епітелії верхніх дихальних шляхів при хронічних риносинуситах є MUC2, MUC5AC та MUC5B, а при ХПР рівень експресії MUC2 і MUC5AC знижується [49, 162]. Lee HM et al вважають, що збільшення продукції слизу при хронічних риносинуситах може бути обумовлене гіперекспресією MUC8 [179]. Подібні зміни у структурі слизу з порушенням її в'язкості призводять до порушення роботи мукоциліарного кліренсу та зменшення виділення інфекційних агентів.

У багатьох дослідженнях доведено, що як при ХГР, так й при ХПР порушується експресія toll-подібних рецепторів, які залучені у реалізацію уродженої імунної відповіді шляхом впізнавання бактеріальних та ендогенних лігандів, та антибактеріальних пептидів [96]. Hirschberg A et al у своєму дослідженні продемонстрували, що експресія мРНК TLR2, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, β -дефензинів 1 і 4, лактоферину була значно підвищена при ХПР, тоді як при ХГР спостерігалась гіперекспресія лише

TLR2 і лактоферину порівняно з контролем [96]. У той же час інші автори спостерігали зниження рівню лактоферина у синоназальній тканині хворих на хронічний риносинусит, тоді як рівень інших антимікробних білків та пептидів не змінювався [127]. Існують різні дані щодо вмісту та експресії лізоциму, що являє собою невеликий катіонний білок, активний по відношенню до грам-позитивних бактерій, при хронічних риносинуситах. У декількох роботах представлені суперечливі дані щодо вмісту даного білка у тканинах верхніх дихальних шляхів, зокрема дані про його підвищення та зниження [79, 90]. Авторами показано, що зміни в експресії TLR2, TLR4 і TLR9 при хронічному риносинуситі обумовлені змінами у цитокіновому профілі [157]. Крім того, показано, що дефіцит одного або декількох факторів вродженого імунітету може вносити вклад у розвиток інфекційного запалення синоназального тракту [126]. Зокрема, на сьогоднішній день найбільш вивченим є вроджений дефіцит лактоферина клітинами епітелію верхніх дихальних шляхів та генетичний поліморфізм гена рецептору гіркого смаку GAS2R38, що також залучений у регуляцію уродженої імунної відповіді у синоназальному тракту. Це призводить до втрати функціонального рецептора, що супроводжується порушеннями детекції молекул, що регулюють кворум-сенсінг у *P. aeruginosa*, і нездатністю виробляти нормальну кількість антимікробного оксиду азоту [240]. На відміну від цього, первинні дефекти епітеліальних toll-подібних рецепторів не описані у пацієнтів з ХПР та ХГР [127, 157].

Таким чином, дані щодо експресії toll-подібних рецепторів та антибактеріальних пептидів при ХПР та ХГР суперечливі, однак не викликає сумніву залученість даних молекул в етіопатогенез хронічного риносинуситу.

Порушення роботи мукоциліарної системи відіграють важливу роль в етіопатогенезі хронічного риносинуситу [125]. Мукоциліарний транспорт – це неспецифічний механізм, активний у слизовій оболонці дихальних шляхів, що відіграє важливу роль у захисті дихальних шляхів. У нормі,

респіраторний епітелій покритий війками, що діють інтегровано та скоординовано, видаляючи різноманітні агенти, зокрема віруси та бактерії, з дихальних шляхів. За звичайних умов війки являють собою циліндричні вирости з апікальної поверхні стовпчастих епітеліальних клітин слизової оболонки, що закріплені внутрішньоклітинними базальними тілами. Кожна епітеліальна клітина містить приблизно 50-200 війок, довжина яких сягає 5-7 мкм, а діаметр - 0,2-0,3 мкм [125].

Показано, що при риносинуситах циліарна дисфункція може бути первинною, яка є результатом генетичних мутацій, що призводять до розвитку структурних дефектів у мукоциліарному апараті або вторинною, що виникає внаслідок дії екологічних, інфекційних або запальних стимулів, які порушують нормальну рухливість або координацію роботи війок [226]. Серед спадкових причин порушення мукоциліарного транспорту, що підвищують ризик розвитку хронічного риносинуситу, слід відзначити первинну циліарну дискінезію [156]. Дана патологія є аутосомно-рецесивного успадкування, а її матеріальною основою є мутації у генах, що кодують структурні компоненти війок, зокрема гени RSPH1, RSPH3, RSPH4A, RSPH9, MCIDAS та CCNO [176].

До вторинних порушень мукоциліарного кліренсу відносять втрату війок при хронічному риносинуситі внаслідок розвитку інфекційного та запального процесів. На роботу війок також негативно впливає секреція більш в'язкого муцину [125]. Цікаво також відмітити, що *P. aeruginosa* та *H. influenzae* виробляють токсини, які впливають на нормальне функціонування мукоциліарної системи [249]. Відомо також, що локальні зміни в експресії цитокінів у верхніх дихальних шляхах впливають на ефективність роботи війок. Зокрема, показано, що ІЛ-8, ІЛ-13 та ФНП-альфа здатні інгібувати активність мукоциліарного транспорту [72, 82]. Таким чином, прозапальні медіатори, що еспресуються у більшій кількості у тканині синопазального тракту хворих на хронічний риносинусит, призводять до порушення роботи мукоциліарної системи вторинного генезу. Отже, при хронічних

риносинуситах дисфункція мукоциліарного транспорту може бути обумовлена генетичними дефектами структурних компонентів війок, що призводять до зниження їх рухливості і, як наслідок, менш ефективного видалення чужорідних об'єктів з верхніх дихальних шляхів, а також продукцією токсинів, що тропні до війок, бактеріями та локальним дисбалансом у продукції цитокінів.

Відомо, що запалення розвивається внаслідок впливу мікроорганізмів, подразників чи токсичних компонентів клітин на тканини та органи. Запалення характеризується активацією основних клітин імунної системи, таких як моноцити, макрофаги, нейтрофіли, базофіли, дендритні клітини, тучні клітини, Т- та В-лімфоцити. При цьому запальний процес регулюється таким чином, щоб забезпечити відповідний набір лейкоцитів та їх комплексну взаємодію з метою раціоналізації імунної відповіді, що контролюється безліччю позаклітинних молекулярних регуляторів, включаючи членів сімейства цитокінів та хемокінів [272; 273]. Отже, характер та протікання запального процесу залежить від особливостей взаємодії імунних клітин, ключову роль у якому відіграють глікопротеїни імунної системи - цитокіни [102, 132, 272]. Цитокіни характеризуються невеликою молекулярною масою (від 5 до 20 кДа) і залучені у регуляцію як гострого, так і хронічного запалення будь-якого генезу багатьма шляхами, зокрема завдяки їх ролі у регуляції міжклітинних взаємодій [73, 118].

У залежності від характеру впливу цитокіну на імунну відповідь виділяють прозапальні та антизапальні цитокіни. До першої категорії відносяться ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-17 та інші [68, 207, 272]. До другої категорії відносяться ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-19, ІЛ-20 та інші [68, 207, 272]. Для характеристики імунної відповіді при запаленнях має також важливе значення на яку ланку імунної системи діє той чи інший цитокін. ФНП- α , ІЛ-12, ІЛ-8, фракталкін переважно активують клітино-опосередковану імунну відповідь [55], у той час як ІЛ-4, ІЛ-10 та ІЛ-13, у першу чергу, задіяні у регуляції гуморальної відповіді [140]. Наприклад, Sultanova

продемонструвала, що імунні реакції при хронічному риносинуситі характеризуються залученням як клітинно-опосередкованого, так і гуморального ланок імунітету [238], що передбачає залученість як однієї, так і іншої групи цитокінів у запальний процес при риносинуситах.

Важливу роль у регуляції інтенсивності запалення грає рекрутування нових імунокомпетентних клітин до зони запалення. Сімейство цитокінів, які залучені у хемоатракцію клітин імунної системи, мають назву хемокіни [124]. Представники сімейства хемокінів мають молекулярну масу від 7 до 15кДа та залученні у регуляції міграції клітин не тільки при запаленні, а й у процесі ембріогенезу та при канцерогенезі [74, 88, 124]. Окрім того, Griffith et al продемонстрували можливість хемокінів впливати на диференціювання незрілих Т-хелперів, що може грати суттєву роль у направленні імунної відповіді по клітинно-опосередкованому чи по гуморальному шляху [124].

Відомо, що хемокіни забезпечують міграцію тих клітин, що експресують відповідні рецептори на поверхні. Хемокіни можна класифікувати відповідно від кількості амінокислотних залишків між двома першими залишками цистеїну на чотири групи : CX₃C, CC, C та CX₃C [187, 234]. До CX₃C підсімейства цитокінів належать 16 хемоатрактантних молекул, серед яких можна відмітити CXCL-1 (GRO- α), CXCL8 (IL-8), CXCL12 (SDF-1) та ін. До CC підсімейства відносяться хемоатрактантні моноцитарні білки: MCP-1 (CCL-2), MCP-2 (CCL-8), MCP-3 (CCL-7) і т.п. Білки RANTES, TARC, MDC також є представниками цієї родини хемокінів. Єдиним представником підсімейства CX₃C хемокінів є фракталкін (CX₃CL1). Підсімейство C хемокінів включає лімфотактін (XCL1) та SCM 1 β (XCL2) [75,234].

З функціональної точки зору важливе значення має класифікація хемокінів в залежності від їх клітинних-мішеней, тобто тих клітин, на поверхні яких експресуються відповідні рецептори до хемокіну. Зокрема хемокіни з CXCL-1 по CXCL-8 стимулюють таксис нейтрофілів до зони запалення [135, 234]. MCP-1, MCP-2, MCP-3, фракталкін активують

хемоатракцію моноцитів та макрофагів [234, 273]. Варто зазначити, що НК-клітини та Th1-клітини рекрутуються фракталкіном [97].

Аналіз даних показав, що імунологічний статус при розвитку як гнійного, так і поліпозного хронічних риносинуситів характеризується змінами цитокинового та хемокинового балансу локального і системного характеру, а також змінами експресії цитокінів як у сторону збільшення, так і зменшення [10, 79].

Оскільки запалення при хронічному поліпозному риносинуситі спершу характеризувалось як еозинофільне Th2-опосередковане, багато досліджень фокусувалось на цитокінах, що здебільшого залучені у регуляції гуморального імунітету [83; 194, 215, 243]. Так ХПР супроводжується підвищенням вмісту Th2-асоційованих інтерлейкінів. Зокрема підвищується вміст ІЛ-4 [194], ІЛ-5 [178; 194] у сироватці крові та експресія їх мРНК [58]. Подібні зміни відбуваються на фоні зниження експресії ІЛ-10 [58]. Крім того, поліморфізм промотора ІЛ-4 асоційований з розвитком поліпів носа та даний інтерлейкін потенціює імунну відповідь фібробластів [194].

У дослідженні Rai G et al встановлено, що при ХПР, що викликається *A. Flavus*, було виявлено підвищення вмісту ІЛ-1 β , ІЛ-17 та ІЛ-21 у сироватці крові у порівнянні з контролем. Однак рівні ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6 та ІЛ-27 були нижчими [228].

Комплексне дослідження König K продемонструвало підвищення ІЛ-5, ІЛ-17, G-CSF, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , ECP та триптази, а також зниження рівня ІЛ-10, ІЛ-12, ІЛ-13 і IFN- γ в назальному секреті при поліпозній формі риносинуситу. Хронічний риносинусит без назальних поліпів супроводжується підвищенням RANTES і MIP-1 β , а також зниженням ІЛ-13 [89].

Stevens VV et al показали, що у тканині назальних поліпів при поліпозній формі риносинуситу достовірно підвищується рівень експресії ІЛ-5, ІЛ-13, еотаксину-2, MCP-4 у порівнянні з безполіпозною формою риносинуситу та контрольною групою [90]. У роботах Cavallari et al

показано, що еотаксин-2 гіперекспресується на фоні підвищення експресії хемокіну RANTES (Regulated on activation normal T expressed and secreted) [116].

Таким чином, незважаючи на багаточисельні дані щодо змін цитокінового та хемокінового спектрів крові, особливостей експресії цих регуляторних молекул та локальних змін концентрації цитокінів, немає консенсусу щодо ідентифікації підтипу запального процесу при хронічних риносинуситах з розвитком поліпів носа та без нього. Зокрема, K. König et al вважають, що ХГР представляє собою типову Th1-опосередковану імунну відповідь, що супроводжується нейтрофільною інфільтрацією, тоді як поліпозна форма захворювання характеризується змішаним профілем (Th1/Th2) та інфільтрацією переважно еозинофілами, плазмовими клітинами та тучними клітинами [89]. Дані Stevens VV et al протирічать вищезазначеним висновкам. Згідно з ними, ХПР характеризується переважанням 2 підтипу запалення, тоді як ХГР не відповідає класичному першому клітино-опосередкованому типу [90].

Отже дані щодо змін цитокінового та хемокінового спектрів при ХПР та ХГР часто неповні та суперечать одні одним. Крім того, цікаво зазначити, що системні зміни цитокінового та хемокінового профілю часто відрізняються від локальних, що спостерігаються безпосередньо у запальній тканині, що обумовлює інтерес до виявлення усіх нюансів кооперації цитокінів та хемокінів для реалізації комплексної імунної відповіді при хронічних риносинуситах.

Відомо, що ХГР супроводжується гістологічними змінами у синоназальному тракті, серед яких переважає фіброз, потовщення базальної мембрани, гіперплазія келихоподібних клітин з секрецією муцину, набряк субепітеліальної тканини та мононуклеарною інфільтрацією, тоді як ХПР характеризується розвитком набряку строми, утворенням псевдоцист, і периваскулярною інфільтрацією [198]. Отже, ремоделювання позаклітинного матриксу характерне для обох форм захворювання, однак

особливості ремоделювання відрізняються в залежності від форми хронічного риносинуситу. Ремоделювання позаклітинного матриксу являє собою динамічний процес, який регулюється балансом між утворенням та деградацією структурних компонентів сполучної тканини [66]. Van Bruaene N та Wachert C продемонстрували, що ключову роль у процесах тканинного ремоделювання при хронічних риносинуситах відіграє трансформуючий фактор росту бета (TGF- β) та матриксні металопротеїнази [264]. TGF- β – це поліпептид, який грає одну з провідних ролей в активації фібробластів з подальшим синтезом колагену I типу та розвитком фіброзу [260]. Показано, що експресія TGF- β підвищується при ХГР, що вносить вклад у розвиток фіброзу [242]. Щодо TGF- β при ХПР виникають непорозуміння у зв'язку з суперечливими даними щодо експресії та ролі даного фактору росту у патогенезі захворювання. Van Bruaene et al показали, що при ХПР рівень TGF- β знижується у порівнянні з контролем, у той час як Zaravinos et al повідомляють про перевищення рівнів TGF- β у порівнянні з контрольною групою та навіть про його збільшення у порівнянні з хворими на ХГР [114, 242]. Гіперекспресія TGF- β також спостерігалась у тканини ранніх поліпів [247]. Окрім впливу на колаген, TGF- β також може впливати на баланс матриксних металопротеїназ (ММП) та їх природних інгібіторів - тканинних інгібіторів металопротеїназ (ТІМП) [214]. ММП – кальцій-залежні протеолітичні ферменти, які беруть участь у деградації позаклітинного матриксу. Їх активність залежить від багатьох факторів, зокрема доступності ТІМП, що являють собою сімейство 4 білкових факторів, що здатні специфічно інгібувати ММП, тим самим зупиняти процеси деградації позаклітинного матриксу [48]. Відомо, що ММП та ТІМП залучені до регуляції ремоделювання тканин при ХПР та ХГР. Зокрема, при ХПР в тканині поліпа спостерігається дисбаланс між експресією ММП-9, що підвищувалась, та ТІМП-2, що знижувалась [154]. Malinsky RR et al вивчали особливості експресії ММП-1, ММП-2, ММП-9 та ТІМП-1 у поліпах носа при ХПР й прийшли до висновку, що експресія

усіх зазначених металопротеїназ підвищувалась на фоні незмінної продукції ТІМП-1 [166]. Згідно з даними Eyubilen A et al, окрім підвищення експресії ММП-1 та ММП-2, при ХПР у поліпозній тканині збільшується вміст ММП-8 та ТІМП-2 [103]. Як можна побачити, усі автори наголошують на гіперекспресії металопротеїназ при ХПР, у той час як існують протиріччя щодо експресії їх інгібіторів.

Інформація щодо особливостей ремоделювання позаклітинного матриксу та ролі матриксних металопротеїназ у цьому процесі при ХГР висвітлена у ще меншому об'ємі. Li X et al встановили, що в гомогенаті слизової оболонки носа підвищується вміст ММП-7 та ММП-9 на фоні підвищення вмісту ТІМП-1 та ТІМП-4 [117]. Також ХГР супроводжується індукцією ММП-1, яка опосередковується дією TGF- β та лейкотрієну LTD₄ [160].

Таким чином, металопротеїнази та їх інгібітори залучені до розвитку хронічних захворювань дихальних шляхів, зокрема риносинуситів, але їх детальні функції в патогенезі ХГР та ХПР висвітлені недостатньо. Хоча потенційно ММП можуть служити прогностичними інструментами та мішенню для нових лікарських засобів, що підкреслює необхідність кращого розуміння функцій металопротеїнази та особливостей ремоделювання позаклітинного матриксу в цілому при хронічному риносинуситі.

В останні роки з'являються дані про залученість епігенетичних механізмів регуляції експресії генів, зокрема метилування ДНК, у етіопатогенезі хронічного риносинуситу [109, 217]. Відомо, що метилування залишків цитозину у ДНК негативно впливає на здатність гену транскрибуватися, що розглядається як сайленсінг гену. Перші дані, які висвітлювали роль епігенетичної регуляції в патогенезі ХГР та ХПР, з'явилися у 2003р.

Незважаючи на невелику кількість робіт, що присвячені цій темі, на теперішній час визначено декілька генів, експресія яких регулюється на

епігенетичному рівні при ХГР та ХПР. Проаналізувавши майже 20000 генів людини, що експресуються у слизовій оболонці носа у пацієнтів з поліпозом та без, Kim JY et al вдалось визначили 518 генів, рівень метилування яких відрізнявся від показників контрольної групи. Продукти даних генів, в першу чергу, залученні у регуляцію запалення [217]. Також було показано, що при ХПР частота метилування гену COL18A1 збільшена у порівнянні зі здоровими людьми [202]. Окрім того, автори вважають перспективним вивчення особливостей метилування генів EP300, GNAS та SMURF1.

Ще одним епігенетичним механізмом регуляції експресії генів при хронічному риносинуситі є мікроРНК – короткі некодуючі молекули РНК, що регулюють генну експресію на посттранскрипційному рівні шляхом сайленсінга гена опосередковано через деградацію мРНК даного гену або шляхом інгібування трансляції [175]. Хоча дослідження особливостей профілю мікроРНК при хронічних риносинуситах є відносно новою темою, сучасні дані свідчать про залучення мікроРНК у регуляцію запального процесу у верхніх дихальних шляхах при риносинуситах [277]. Xia G et al показали, що у порівнянні з контрольною групою у пацієнтів з ХГР та ХПР спостерігається підвищення експресії miR-125b, miR-155 та miR-146a на фоні зниженої експресії miR-92a, miR-26b і miR-181b. При ХГР рівень експресії miR-125b і miR-155 був високий, тоді як miR-92a, miR-26b, miR-181b знижувались при поліпозній формі риносинуситу [100]. Korde A et al вважають, що miR-1 залучена в ремоделювання тканин при ХПР [151]. Вивчення ролі регуляторних молекул мікроРНК у патогенезі хронічних риносинуситів тільки набирає оберти, але вже зараз необхідно підкреслити важливість даних молекул, а також їх потенційну діагностичну роль та можливість слугувати мішенями для терапевтичних засобів.

Таким чином, зміни у патерні метилування ДНК та у профілі експресії молекул мікроРНК можуть розглядатися в якості суттєвої патогенетичної ланки хронічного риносинуситу, беручи до уваги

залученість цих епігенетичних механізмів у регуляцію диференціації, проліферації, апоптозу та активації імунних клітин. Зміни у метилуванні можуть інгібувати продукцію протизапальних медіаторів і вносити вклад до подовженого виживання та активації прозапальних клітин, а також змінювати характер імунної відповіді на бактеріальну інфекцію.

1.2. Сучасні уявлення про діагностику та лікування хронічних риносинуситів

Діагноз хронічного риносинуситу верифікується за допомогою клінічних та лабораторно-інструментальних методів. Існують деякі розбіжності в особливостях діагностики захворювання в Україні та інших країнах, зокрема у Сполучених Штатах та країнах західної Європи.

За останні роки з'явилося п'ять регламентуючих документів, що базуються на доказовій медицині та регулюють діагностику та ведення пацієнтів з риносинуситами, а саме Європейський погоджувальний документ щодо риносинуситу і поліпів носа 2007 року (EP³OS), Ініціативи з риносинуситів (RI), Спільна робоча група з показників, що використовуються в практиці (JTFPP), Керівні принципи клінічної практики: синусит у дорослих (CPG:AS), та рекомендації Британського товариства алергії та клінічної імунології (BSACI) [174]. У нашій країні перелік діагностичних та лікувальних заходів представлений у протоколі №181 з надання медичної допомоги хворим з хронічним синуситом від 24 березня 2009 р.

Одним з основних клінічних маркерів хронічного риносинуситу є тривалість збереження симптомів. Так, для постановки діагнозу хронічного риносинуситу клінічні маніфестації повинні зберігатись протягом щонайменше 8-12 тижнів [84]. У зв'язку з даним фактом, для диференційної діагностики важливо відрізнити хронічний риносинусит від рецидивуючої

форми гострого запалення синоназального тракту, яке характеризується 2-4 самостійними епізодами гострого риносинуситу на рік. При цьому спостерігається повна елімінація симптомів між епізодами захворювання. Такі епізоди повинні розглядатися у якості самостійного захворювання.

У цілому, симптоматика хронічного риносинуситу подібна до тієї, що спостерігаються при гострій формі захворювання (обструкція носа, біль у місцях проекції навколоносових синусів, відчуття тиску або наповненості), але симптоми частіше менш виражені [4; 46; 84, 174]. Інколи при захворюванні спостерігається лише один симптом. Цікаво відмітити, що порушення нюху як симптом хронічного риносинуситу визначається у 4 з 5 регламентуючих документів (EP³OS, RI, CPG:AS, and BSACI). У той же час даний симптом розглядається в якості клінічної маніфестації гострого риносинуситу лише двома документами. Відповідно до рекомендацій EP³OS, додатковими симптомами риносинуситу є вушна та зубна біль, кашель, підвищення температури та втома [121].

Рекомендації RI, CPG:AS та EP³OS щодо діагностики хронічних риносинуситів в цілому схожі. Згідно з RI, симптоми хронічного риносинуситу повинні тривати, по меншій мірі, 12 тижнів і хворий має мати два з чотирьох нищеперелічених симптомів: закладеність носа, наявність носових виділень, біль у місцях проекції синусів або ж відчуття тиску та заповненості, а також зниження нюху. Слід зазначити, що біль, відчуття тиску та заповненості характерні здебільшого для хворих на ХГР, у той час як пацієнти з ХПР скаржаться переважно на зниження нюху. Схожі рекомендації з діагностики представлені у CPG:AS, EP³OS та BSACI. Єдиною відмінністю є той факт, що у CPG:AS зазначено те, що одним з основним симптомів хронічного риносинуситу є або виділення з носа, або його закладеність [121, 174].

Згідно з рекомендаціями протоколу № 181 до ознак синуситу відносять виділення з носа, характер яких залежить від форми захворювання. У хворих спостерігається утруднення дихання на боці

ураження та порушення нюху, біль в ділянці біляносової пазухи, що запалена. Загострення хронічного риносинуситу характеризується підвищенням температури. Також з'являється припухлість щоки та набряк повік.

Крім того, клінічний діагноз хронічного риносинуситу може бути підтверджено ендоскопічним методом (наявність поліпів носа або гнійних виділень) та/або КТ [180, 188]. КТ навколоносових пазух є одним з найбільш розповсюджених методів для підтвердження або виключення хронічного риносинуситу. Незважаючи на те, що даний метод зарекомендував себе в якості надійного, точного та ефективного діагностичного інструменту при хронічному риносинуситі, він характеризується доволі високим радіаційним навантаженням для пацієнтів. Крім того, відомо, що результати КТ можуть допомогти клініцистам прогнозувати важкість симптомів при обструкції та виділеннях з носа, але не для інших симптомів хронічного риносинуситу. Проте результати КТ не корелюють з загальним показником важкості захворювання [81]. У цьому разі магнітно-резонансна томографія (МРТ) розглядається в якості альтернативи КТ [63]. У протоколі № 181 КТ та МРТ розглядаються у якості додаткових методів дослідження поряд з діагностичною пункцією верхньощелепної пазухи та контрастною рентгенографію верхньощелепної пазухи. Крім того, перелік лабораторно-інструментальних діагностичних процедур згідно з протоколом №181 з надання медичної допомоги хворим з хронічним синуситом включає клінічний аналіз крові з визначенням формули крові, клінічний аналіз сечі, бактеріологічне та мікологічне дослідження мазка з порожнини носа або аспірату із синусу, дослідження чутливості мікрофлори до антибіотиків, а також рентгенографія навколоносових пазух.

Лікування хронічного риносинуситу ґрунтується на застосуванні лаважу носа, призначенні місцевих антибіотиків та антисептиків у вигляді спрею або крапель та місцевому вживанні кортикостероїдів, як у формі

спрею при легких формах, так і у вигляді крапель при помірній тяжкості. У важких випадках захворювання рекомендуються короткі курси оральних глюкокортикоїдів. Серед маніпуляцій для лікування хронічних риносинуситів рекомендується змашування слизової оболонки середнього носового ходу адреноміметиками, використання турунд, що просочені адреноміметиками, в середній носовий хід, а також виконання пункції верхньощелепної пазухи (щоденно або через день) із промиванням та введенням розчинів адреноміметиків.

Оперативне лікування повинно проводитися лише тоді, коли консервативне лікування не виявилось ефективним. Окрім того, лікування завжди слід продовжувати після операції [50, 161].

Необхідно відмітити, що незважаючи на великий перелік лікувальних засобів, деякі пацієнти з хронічним риносинуситом не відповідають оптимально на поточні методи лікування, що рекомендуються протоколами. Хвороба у таких пацієнтів характеризується тяжким перебігом з низькою ефективністю лікування та низьким рівнем якості життя. Важливо визначити в цій підгрупі пацієнтів нові біохімічні маркери, які можуть використовуватись для діагностики або оцінки ефективності лікування [105; 158]. У багатьох роботах було продемонстровано, що багато молекул диференційно експресуються у хворих на хронічний риносинусит та потенційно можуть бути використані у якості діагностичних маркерів [199], що обумовлює актуальність вивчення патогенезу хронічного поліпозного та хронічного гнійного риносинуситу в стадії загострення для пошуку нових біомаркерів захворювання.

Крім того, оскільки етіологія захворювання ще остаточно невідома і, швидше за все, пов'язана з дією численних навколишніх факторів та особливостями макроорганізму, сучасні методи лікування спрямовані не на етіологічні чинники, а на зменшення інтенсивності запалення слизової оболонки, контроль інфекційного процесу та відновлення мукоциліарного кліренсу в пазухах [237]. У зв'язку з тим актуальним є дослідження,

направленні на краще розуміння патогенезу ХГР та ХПР. Такі роботи, безумовно, забезпечать краще розуміння патофізіології цього захворювання та призведуть до розробки нових, більш ефективних терапевтичних стратегій, що призведе до покращення результатів лікування та покращення якості життя хворих.

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика об'єкту дослідження

Робота виконана у 2015 – 2018 рр. на базі кафедр біологічної хімії (завідувач – проф. О.А. Наконечна) та оториноларингології (завідувач – проф. Журавльов А.С.) Харківського національного медичного університету, у біохімічному та морфологічному відділах Центральної науково-дослідної лабораторії (завідувач – к.фарм.н. Т.О. Іваненко) Харківського національного медичного університету та оториноларингологічному відділенні КЗОЗ «ОКЛ ЦЕМП та МК» м. Харкова (завідувач – к.мед. н. Калашник М.В.), Інституті сцинтиляційних матеріалів Національної академії наук України та Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

Відповідно до задач роботи було досліджено 52 пацієнта с хронічним гнійним риносинуситом у стадії загострення та 51 хворий на хронічний поліпозний риносинусит, які знаходились на стаціонарному лікуванні в оториноларингологічному відділенні КЗОЗ «ОКЛ ЦЕМП та МК» м. Харкова. Досліджено 17 жінок віком від 21 до 74 років (середній вік $42,12 \pm 3,65$ року) та 35 чоловіків віком від 19 до 54 років (середній вік $33,20 \pm 1,48$ року) з хронічним гнійним риносинуситом у стадії загострення. Щодо хворих на хронічний поліпозний риносинусит, досліджено 21 жінок, вік яких варіювався від 19 до 77 (середній вік $45,67 \pm 3,12$ року) та 30 чоловіків віком 22-70 років (середній вік $42,80 \pm 2,49$ року). Групу контролю склали 50 (15 жінок та 35 чоловіків) відносно здорових людей з викривленням носової перетинки (середній вік $31,96 \pm 1,56$ року). Діагнози верифікувалися за допомогою клініко-анамнестичних та інструментальних методів відповідно до протоколу №181 про надання медичної допомоги хворим з хронічним синуситом, що затверджений

наказом МОЗ України від 24.03.2009 р. Критеріями виключення були відмова хворих брати участь у дослідженні, вагітність і наявність будь-яких соматичних гострих або хронічних супутніх захворювань, ендокринної патології, ожиріння, гіпертонічної хвороби. Кожен пацієнт підписував інформовану згоду на участь в дослідженні.

При клініко – анамнестичному обстеженні хворі з загостренням ХГР скаржились на закладеність носу з порушення носового дихання, виділення з носу слизово-гнійного характеру, дискомфорт та відчуття наповненості в області параназальних синусів, головний біль. При ХПР пацієнти також пред'являли скарги на закладеність носа та порушення носового дихання, але постійного характеру та яке не відновлювалося після застосування судиннозвужуючих крапель, на періодичні слизові виділення з носу, зниження нюху, дискомфорт та відчуття тиску в області носу, частий головний біль.

При виконанні даного дослідження автор керувався загальноприйнятими світовими та вітчизняними нормами біоетики відповідно до пунктів Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р), Гельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2000 рр.) та наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р .

2.2. Забір матеріалу, показники, що досліджуються, та методи їх виміру

Біохімічні методи дослідження виконані в сироватці крові.

Забір крові проводили в стерильних умовах за допомогою пункції ліктьової вени будь-якої руки вранці натщесерце. Венозну кров в обсязі 5 мл збирали у пробірку. Кров центрифугували для отримання сироватки протягом 10 хвилин при 3000 обертах/хв.

Щоб уникнути ефекту дії неодноразових циклів заморожування-розморожування сироватку крові розливали в кілька мікропробірок і зберігали при -51°C до проведення імуноферментного дослідження.

У ході дослідження проводили вимірювання концентрації наступних показників у сироватці крові: ТБК-активних продуктів, дієнових кон'югатів, 8-ізопростану, ФНП- α , ІЛ-1 α , ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10, ІЛ-12, фракталкіна, моноцитарного хемоатрактантного білку-1 (MCP-1), мелатоніна, матриксної металопротеїнази-9 (ММП-9). Визначалась загальна антиоксидантна активність (ЗАА) сироватки крові. Інтенсивність перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за допомогою детекції ТБК-активних продуктів та ДК у сироватці крові, а також вмісту маркера оксидативного стресу та ліпідної пероксидації – 8-ізопростану.

Показники осидантно-антиоксидантної системи. Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові визначали спектрофотометричним методом за Федоровою Т.М. зі співавт. [38]. Метод заснований на здатності малонового діальдегіду та інших продуктів ПОЛ давати забарвлений комплекс в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою. Вміст ДК у сироватці крові хворих на обидві досліджувані форми хронічного риносинуситу визначали за допомогою класичного методу за Z. Placer (1968) у модифікації Гаврилова В.Б. та спів. [3]. При цьому 0,2 мл сироватки вносили до пробірки і додавали 2 мл чисто перегнаної суміші ізопропана та гептана (1:1 за об'ємом). Суміш струшували протягом 1 години, після чого додавали 0,5 мл хлорводневої кислоти ($\text{pH} = 2$) і ще раз струшували протягом 2 хв. Далі додавали 1 мл чисто перегнаного гептана і струшували ще 15 хв. Приблизно через 1 годину вимірювали оптичну щільність верхньої фази при 232 нм проти контрольної проби. Використовували коефіцієнт екстинції - $2,2 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$.

Вміст 8-ізопростану та мелатоніну у сироватці крові вимірювали ІФА-методом за допомогою наборів реактивів фірми «IBL-Hamburg GmbH» (Гамбург, Німеччина).

Для оцінки стану антиоксидантної системи у хворих на хронічний поліпозний та гнійний риносинусит у стадії загострення визначали ЗАА сироватки крові, яку визначали спектрофотометрично [1].

Визначення цитокинового профілю. Концентрацію цитокінів ФНП- α , ІЛ-1 α , ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-12, а також хемокинів ІЛ-8, MCP-1 та фракталкіну у сироватці крові визначали за допомогою діагностичних тест-систем методом твердофазного імуноферментного аналізу. Вимірювання проводилось відповідно до інструкцій, що містились у відповідних тест-системах. Для реєстрації оптичної щільності отриманих розчинів використовували стріповий імуноферментний аналізатор «Awareness Technology Stat Fax 303 Plus» (США). Кількісна оцінка результатів проводилася методом побудови калібрувальної кривої, що відображають залежність оптичної щільності від концентрації для стандартного антигену і проводять порівняння з ним досліджуваних зразків.

Для визначення концентрацій ФНП- α , ІЛ-1 α , ІЛ-4 та ІЛ-8 в сироватці крові хворих використовувались ІФА-набори фірми «Вектор-Бест» (Російська Федерація). Вміст хемокину фракталкіну визначали методом імуноферментного аналізу з використанням набору реактивів фірми «RayBiotech» (США). Концентрації ІЛ-12 у хворих на хронічний гнійний риносинусит у стадії загострення та хронічний поліпозний риносинусит, а також у представників контрольної групи визначали за допомогою тест-систем фірми «Orgenium» (Финляндія). Рівень ІЛ-10 у сироватці визначали за допомогою набору фірми «eBioscience» (Відень, Австрія).

Дослідження про- та антифібротичних факторів. Концентрацію MCP-1 та протеолітичного ферменту MMP-9 у сироватці крові вимірювали

за допомогою ІФА наборів, вироблених компанією «eBioscience» (Відень, Австрія).

Гістологічне дослідження. Проводилось гістологічне дослідження з приготуванням та описом мікропрепаратів поліпів та фрагментів тканин синоназального тракту, які були пофарбовані гематоксилином та еозином, пікрофуксином за Ван Гізон.

При хірургічному видаленні поліпів фрагменти тканин забиралися для проведення морфологічного дослідження. У хворих на гнійний риносинусит проводився забір фрагментів слизової оболонки верхньощелепної пазухи при проведенні гайморотомії за показаннями. Отримані фрагменти тканини фіксувалися у 10%-вому нейтральному формаліні та підлягали парафіновій заливці після спиртової проводки. Зрізи товщиною 5-6 мкм фарбували пікрофуксином по ван Гізон [11].

Мікроскопіювання і фотографування препаратів проводили на мікроскопі «Axiostar-plus» (Zeiss, Німеччина) при проведенні світлового мікроскопіювання.

Імуногістохімічний аналіз. Зразки фіксувалися у 10%-ову нейтральному розчині формаліну. Товщина зрізів становила 4 мкм. Імуногістохімічний аналіз проводили з використанням мишачих моноклональних антитіл до віментину виробництва фірми «Thermo Fischer Scientific» (Великобританія). Після інкубації з первинними антитілами до віментину, мікрозрізи обробляли кон'югатом з анти-(мишачим IgG), що були кон'юговані з пероксидазою хрину. Візуалізацію комплексу антиген-антитіло виконували з використанням 3,3'-діамінобензидину.

Дослідження стану цитоплазматичних мембран проводили методом флуоресцентних зондів за допомогою спектрофлуориметра «Hitachi 4010».

При дослідженні еритроцитів використовували зонди O1O (2 - (2 - ОН-феніл) -5- феніл-1 ,3- оксазол) і РН7 (2 - (2 - ОН- феніл)-фенантрен [10,11]-1,3-оксазол), а епітелію слизової оболонки носа – зонд 010.

Флуоресцентні зонди розчиняли в ацетонітрилі до початкової концентрації 2×10^{-4} моль/л. 10 мкл кожного з відповідних розчинів зонду додавали до 2 мл суспензії еритроцитів, яку виготовляли шляхом триразового відмивання та суспензії епітелію слизової оболонки носа. Кінцева концентрація кожного з зондів у фізіологічному розчині з еритроцитами хворих на хронічний риносинусит, становила 1×10^{-6} моль/л, таким чином, молярне співвідношення ліпід/зонд складало 1000:1. Вимірювання проводилось через 1 годину після додавання зондів до розчину еритроцитів. Спектри флуоресценції зондів вимірювали в області 340-600 нм при ширині щілин монохроматорів збудження і флуоресценції 5 і 5 нм відповідно, і довжині хвилі збудження 330 нм [36, 37].

Метод протокової цитометрії. Дослідження життєздатності ядровмісних клітин периферійної крові, а також різновидів та стадії їх клітинної смерті, проводили методом протокової цитометрії з використанням цитофлуорометра «FACS Calibur» фірми «Becton Dickinson» ("BD", США). Оцінка стадій апоптозу/некрозу проводилася шляхом одночасного додавання маркерів: ФІТЦ-міченого анексину V (Annexin V FITC), фікоеритрин-мічених мишиних моноклональних антитіл до CD45 (CD45 PE) та 7-аміноактиноміцину (7-AAD). П'ять мкл анексина V, 10 мкл 7-AAD та 10 мкл CD45 PE додавали до 50 мкл цільної крові. Потім розчини перемішували та інкубували протягом 15 хвилин при кімнатній температурі, уникаючи впливу світла. Зразки аналізували з використанням цитофлуорометра «FACS Calibur» ("BD", США). Цей метод дозволяє ідентифікувати чотири різних стани клітин: 1 - життєздатні клітини (AnnexinV-7AAD- - клітини); 2 - ранні апоптотичні клітини (AnnexinV + 7AAD- - клітини); 3 - пізньоапоптотичні / некротичні клітини (AnnexinV +

7AAD + - клітини); 4 - мертві некротичні клітини (AnnexinV-7AAD + - клітини).

Оцінка результатів була проведена за допомогою програм «CELLQuest Pro» та «WinMDI Version 2.9».

2.3. Статистична обробка отриманих даних

Отримані в результаті дослідження дані оброблялися статистично за допомогою комп'ютерної програми «Graph Pad Prism 5». Для порівняння показників двох незалежних груп використовувався метод розрахунку непараметрического U критерію Манна-Уїтні та параметричного t-критерію Ст'юдента. При використанні непараметрического U критерія цифрові дані представлені в вигляді медіани (Me) та інтерквартильного розмаху (25%, 75%). Граничним значенням статистичної достовірності отриманих результатів вважалось $p < 0,05$. Для визначення кореляційної між двома незалежними показниками використовувалось визнання непараметричного коефіцієнту кореляції Спірмена. При значенні $r < + 0,3$ кореляційний зв'язок вважався слабким, при $r = + 0,3 - 0,7$ - середнім, а при $r > + 0,7$ кореляційний зв'язок розцінювався як сильний [43].

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ЛІПІДНОЇ ПЕРОКСИДАЦІЇ, СТАНУ
АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА СТРУКТУРНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ
ФОСФОЛІПІДНИХ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ У ХВОРИХ НА
ХРОНІЧНИЙ ПОЛІПОЗНИЙ ТА ГНІЙНИЙ РИНОСИНУСИТ У СТАДІЇ
ЗАГОСТРЕННЯ

3.1. Оцінка вираженості процесів ліпідної пероксидації у пацієнтів з хронічними риносинуситами

Запальні процеси характеризуються комплексною взаємодією між макроорганізмом, мікроорганізмами та оточуючим середовищем. Однією з типових відповідей організму на патогени є генерація активних форм кисню (АФК) поліморфоядерними нейтрофілами, які виступають у ролі сигнальних молекул, призводять до пошкодження ендотелію судин у зоні ураження та відкривають міжклітинні контакти ендотеліоцитів з наступною міграцією імунних клітин до зони запалення [212].

Надлишкова продукція АФК при хронічних запальних процесах призводить до пошкодження мембран, що супроводжується деструкцією клітин, активацією окисного модифікування білків з їх наступним виходом з ладу, пошкодженням ДНК та ін. Отже, пошкодження біомолекул тканин, у тому числі ліпідів, білків та ДНК, вільними радикалами вносить важливий внесок у розвиток оксидативного стресу при різноманітних станах та захворюваннях [147]. Внаслідок гіперпродукції АФК на фоні недостатності антиоксидантного захисту при хронічному запаленні розвивається оксидативний стрес [7, 45, 65, 155, 222].

Досліджено основні показники інтенсивності ліпідної пероксидації в крові хворих на хронічний гнійний риносинусит, які наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

**Параметри ліпідної пероксидації у сироватці крові пацієнтів з
хронічним поліпозним риносинуситом та хронічним гнійним
риносинуситом у стадії загострення (Me [25%; 75%])**

Групи	ТБК-активні продукти, мкмоль/г білка	Дієнові кон'югати, мкмоль/г білка	8-ізопростан, нг/мл
Контрольна група (n=20)	3,72 [2,85; 4,27]	1,61 [1,47; 2,02]	2,16 [1,16; 2,78]
Хронічний гнійний риносинусит (n=20)	7,06 [5,48; 8,07] p<0,0001	3,39 [2,33; 4,01] p<0,001	4,84 [3,89; 6,67] p<0,0001
Хронічний поліпозний риносинусит (n=20)	5,95 [4,69; 7,01] p<0,0001	2,65 [2,06; 3,76] p<0,001	3,94 [3,32; 5,22] p<0,001

Примітка. p - достовірність відмінностей у порівнянні з показниками контрольної групи

У ході проведеного дослідження встановлено, що для розвитку обох форм хронічного риносинуситу характерне достовірне підвищення вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові на 89,78% та 59,94% при ХГР та ХПР відповідно. Слід відмітити, що при гнійному характері запалення вміст ТБК-активних продуктів більше. Схожий характер змін сироваткової концентрації при ХПР та ХГР у стадії загострення спостерігається й для дієнових кон'югатів (ДК) (табл. 3.1). Вміст ДК перевищував вміст цього продукту ПОЛ у контрольній групі на 110,56% та 64,59% відповідно при гнійній та поліпозній формі захворювання.

Оскільки ТБК-активні продукти та ДК являють собою вторинні та кінцеві продукти ПОЛ, що утворились з нестабільних гідроперекисів, які, у свою чергу, є продуктом взаємодії АФК з поліненасиченими жирними кислотами, що входять до складу ліпідного бішару мембран, підвищення вмісту вищезазначених показників у сироватці крові є ознакою активації процесів ліпідної пероксидації, що призводить до пошкодження цілісності мембран клітин з їх подальшою загибеллю [8, 42]. Зміни вмісту маркерів ліпідної пероксидації у сироватці крові вказують на більш виражені порушення інтегрального редокс-стану у хворих саме на ХГР у стадії загострення.

Ще одним маркером активації ПОЛ та розвитку оксидативного стресу, який, у порівнянні з іншими подібними сполуками, характеризується високою хімічною стабільністю, специфічністю, незалежністю його концентрації у біологічних рідинах та тканинах організму від вмісту ліпідів у дієті, є 8-ізопростан [61, 92, 206]. Надодачу, цікаво відмітити, що 8-ізопростан є раннім маркером активації ПОЛ та розвитку оксидативного стресу, підвищення якого може бути детектовано навіть через декілька годин після дії тригера запалення [106].

У ході проведення дослідження встановлено, що обидві форми хронічного риносинуситу характеризуються підвищенням концентрації 8-ізопростану у сироватці крові. Однак кількісні показники вмісту вищезгаданого маркеру активації ліпідної пероксидації різняться у пацієнтів з ХГР у стадії загострення та у хворих на ХПР.

Аналіз сироваткового рівня 8-ізопростану показав, що у хворих на ХГР цей показник перевищує аналогічній у контрольній групі у 2,2 рази, у той час як при поліпозній формі хронічного риносинуситу концентрація 8-ізопростану була лише у 1,8 рази вище в порівнянні з контролем (табл. 3.1). У обох випадках різниця між групами була статистично достовірною ($p < 0,0001$ й $p < 0,001$, відповідно). Оскільки 8-ізопростан формується *in vivo* внаслідок неферментативного вільнорадикального окислення

поліненасиченої арахідонової кислоти [147], підвищення його вмісту у сироватці крові хворих вказує на активацію вільнорадикальних процесів та ліпідної пероксидації.

При комплексному аналізі вмісту біохімічних маркерів вільнорадикальних процесів (8-ізопростану, ТБК-активних продуктів та ДК) у сироватці крові з метою оцінки інтегрального редокс-стану хворих на найбільш розповсюджені форми хронічного риносинуситу вдалося виявити, що при загостренні ХГР інтенсивність процесів ПОЛ та вільнорадикальних процесів більш виражені, ніж при поліпозній формі захворювання. Відомо, що АФК можуть генеруватися внаслідок позаклітинних та внутрішньоклітинних ефектів прозапальних цитокінів або інших медіаторів запалення [112]. Крім того, основним джерелом генерації АФК при запаленні є активовані нейтрофіли, які продукують АФК шляхом «окисного вибуху» для боротьби з патогенними мікроорганізмами. Оскільки відомо, що ХГР характеризується нейтрофільним запаленням, на відміну від ХПР, який відрізняється переважанням еозинофільного компонента, різниця між рівнями маркерів ПОЛ при ХГР та ХПР може бути пояснена внеском нейтрофілів у патогенез гнійної форми хронічного риносинуситу.

3.2. Стан антиоксидантної системи при хронічному поліпозному та гнійному риносинуситі

В організмі людини біологічні ефекти вільних радикалів контролюються антиоксидантною системою (АОС), яка включає ферментативні та неферментативні компоненти [112]. До першої ланки АОС можна віднести супероксиддисмутазу (СОД), яка каталізує утворення перекису водню з супероксидних аніонів, що в подальшому перетворюється на молекулу кисню і воду під дією каталази або селензалежного ферменту глутатіонпероксидази, який використовує SH-групи трипептиду глутатіону у якості донорів водню для декомпозиції перекису водню. До

неферментативних антиоксидантів відносять речовини, що мають здатність переривати вільнорадикальні ланцюгові реакції. До таких речовин належать вітаміни А, С, Е, глутатіон, урати, поліфеноли рослин, каротиноїди, тощо [152, 186, 232]. Для інтегральної та комплексної оцінки стану АОС доцільно використовувати показники, що відображають стан обох компонентів антиоксидантного захисту. Одним з таких показників є загальна антиоксидантна активність крові (ЗАА).

Встановлено, що обидві патології, що досліджуються, характеризуються зниженням ЗАА. При ХГР ЗАА крові на 39,4% нижче у порівнянні з контрольною групою, у той час при ХПР даний показник знижений на 21,2% у порівнянні з умовно здоровими людьми (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Загальна антиоксидантна активність крові у пацієнтів з
хронічним поліпозним та хронічним гнійним риносинуситом у стадії
загострення (Me [25%; 75%])**

Групи	Загальна антиоксидантна активність, од/мл
Контрольна група (n=20)	0,33 [0,30; 0,41]
Хронічний гнійний риносинусит, (n=20)	0,20 [0,17; 0,25] p<0,01
Хронічний поліпозний риносинусит, (n=20)	0,26 [0,19; 0,29] p<0,05

Примітка. p - достовірність відмінностей у порівнянні з показниками контрольної групи

Серед компонентів АОС для аналізу був обраний гормон епіфізу мелатонін, який являє собою один за найбільш потужніших антиоксидантів.

Встановлено, що вміст мелатоніну в сироватці крові хворих на хронічний поліпозний риносинусит знижено у 2,27 рази, а при гнійній формі захворювання у 3 рази в порівнянні з контролем (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Вміст гормону епіфізу мелатоніну у крові пацієнтів з хронічним поліпозним та гнійним риносинуситом у стадії загострення і здорових осіб (M ± m)

Показник, одиниця виміру	Здорові люди (контрольна група)	Хворі на хронічний поліпозний риносинусит	Хворі на хронічний гнійний риносинусит
	n=20	n=20	n=20
Мелатонін, пг/мл	32,98±1,35	14,48±1,97*	11,02±1,75*

Примітка.* - достовірність відмінностей у порівнянні з показниками групи контролю ($p < 0,0001$).

Зниження вмісту мелатоніну може сприяти інтенсифікації запального процесу, оскільки мелатоніну притаманні антиоксидантні властивості і при дефіциті даного гормону посилюється оксидативний стрес. Відомо, що мелатонін знижує транслокацію в ядро і зв'язування транскрипційного ядерного фактора «каппа-бі» (NF-κB) з ДНК, що зменшує експресію прозапальних цитокінів [172, 185]. Таким чином, дефіцит мелатоніну у крові хворих з хронічною формою поліпозного риносинуситу може ускладнити перебіг захворювання за рахунок промоції експресії ФНП-α і прозапальних інтерлейкінів.

Подібні зміни ЗАА та вмісту сироваткового мелатоніну вказують на недостатню активність АОС, яка неспроможна компенсувати гіперпродукцію АФК та інтенсифікацію вільнорадикальних процесів в організмі хворих на хронічний риносинусит. Слід відмітити, що ступень

депресії АОС вище при гнійній формі захворювання, ніж при поліпозному риносинуситі. Беручи до уваги більшу вираженість процесів ПОЛ саме при гнійному риносинуситі та більш вагоме зниження ЗАА, можна припустити, що гнійна форма риносинуситу характеризується вираженішими порушеннями редокс-рівноваги.

Таким чином, активація вільнорадикальних процесів на фоні зниження активності АОС у хворих на ХГР у стадії загострення та ХПР вказує на наявність порушення редокс-гомеостазу з розвитком окисного стресу. Головним наслідком такого стану є пошкодження клітинних структур, зокрема нуклеїнових кислот, ліпідів та білків, що може здійснювати серйозний вплив на життєздатність клітин або викликати різноманітні клітинні реакції, які можуть привести до загибелі клітин шляхом апоптозу або некрозу.

3.3. Оцінка стану мембран еритроцитів методом флуоресцентних зондів

Вивчення маркерів ліпідної пероксидації та параметрів антиоксидантного захисту дозволило зробити висновок про розвиток оксидативного стресу при захворюваннях, що досліджуються. Можна припустити, що при цьому стані пошкоджуються мембрани клітин, тому цікавим є дослідження саме цих структур клітини. Для вивчення стану мембран були обрані еритроцити у зв'язку з можливістю оцінити системний характер пошкодження мембран та неінвазивністю методу отримання біоматеріалу.

Стан фосфоліпідів в мембранах еритроцитів пацієнтів з ХГР у стадії загострення та ХПР досліджували за допомогою флуоресцентних зондів, які успішно застосовувалися раніше для досліджень біомембран [2, 35, 36, 37; 113; 205]: 2-(2'-ОН-феніл)-5-феніл-1,3-оксазол (зонд О1О), 2-(2'-ОН-феніл)-5-(4'-феніл-феніл)-1,3-оксазол (зонд О6О) і 2-(2'-ОН-феніл)-фенантр(10,11)-1,3-оксазол (зонд РН7). Вищезазначені зонди чутливі до змін

протонодонорної здатності, полярності і в'язкості мікросередовища [6, 35, 39]. Для детекції змін у різних областях мембрани було обрано три зонда, що розрізняються за своєю ліпофільністю і, відповідно, локалізацією в фосfolіпідному бішарі [35, 36, 37]. Очікувана локалізація застосованих зондів продемонстрована на рис. 3.1 [5, 35, 36, 37]. Відомо, що зонд O1O локалізується в області гліцеринових головок фосfolіпідів (ближче до центру ліпідного бішару), в області карбонільних груп фосfolіпідів та в області жирнокислотних ланцюжків фосfolіпідів, що прилягають до карбонільних груп. У той час зонд O6O розташовується в районі карбонільних груп фосfolіпідних молекул та жирнокислотних хвостів фосfolіпідів (поблизу полярної частини бішару). Найбільш гідрофобний зонд RH7 локалізується в області жирнокислотних хвостів молекул фосfolіпідів (біля центру бішару) та у центрі ліпідного бішару мембран [5] (рис. 3.1)

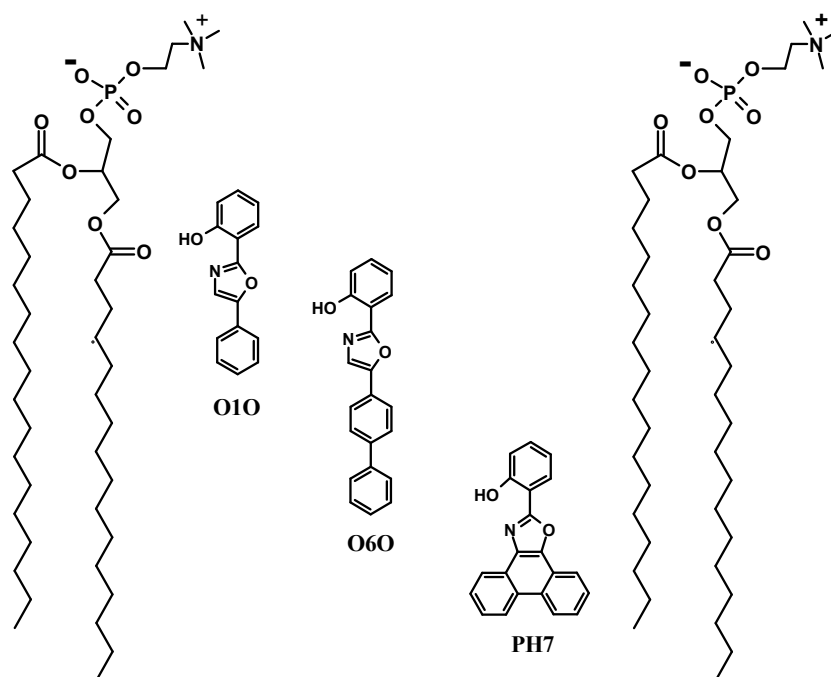


Рис. 3.1. Теоретичне розташування флуоресцентних зондів O1O, O6O і RH7 у мембрані, що передбачене їх структурними властивостями та подібністю до флуоресцентних зондів з відомою локалізацією. Дві молекули фосфатидилхоліну із зовнішнього моношару фосfolіпідів продемонстровані для наглядності локалізації зондів O1O, O6O і RH7.

На рис. 3.2 та рис. 3.3 представлені результати вимірювань флуоресценції зондів O1O, O6O і PH7 у суспензіях еритроцитів хворих на загострення ХГР та ХПР відповідно у порівнянні з контрольною групою.

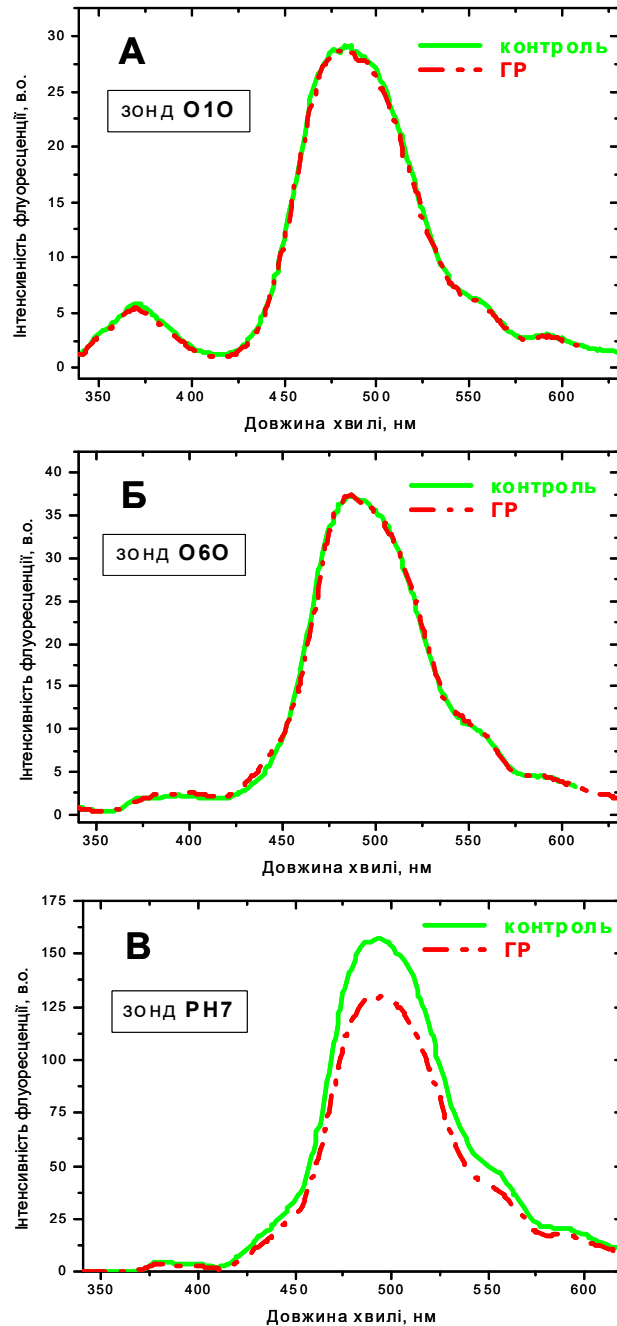


Рис. 3.2. Спектри флуоресценції зондів O1O (А), O6O (Б) і PH7 (В) у суспензіях еритроцитів: (а) контрольна група (суцільна лінія); (Б) пацієнти з загостренням хронічного гнійного риносинуситу (пунктирна лінія).

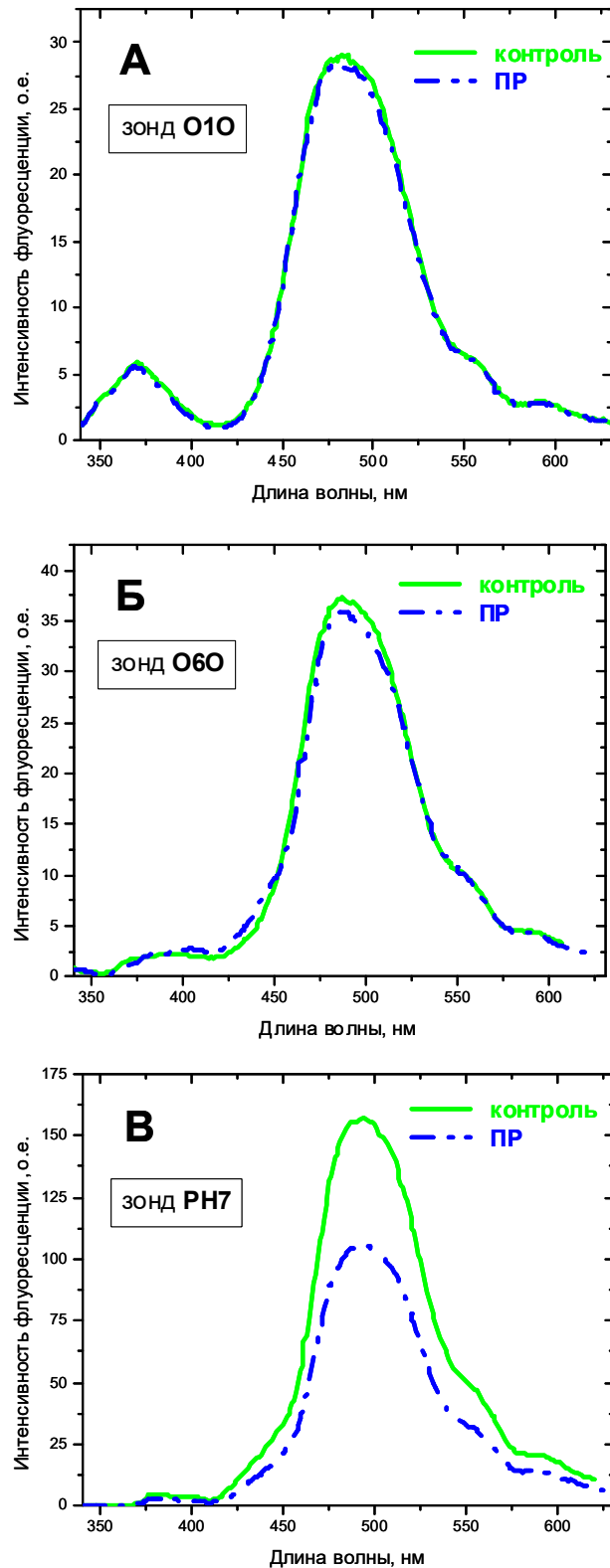


Рис. 3.3. Спектри флуоресценції зондів O1O (A), O6O (Б) і PH7 (B) у суспензіях еритроцитів: (а) контрольна група (суцільна лінія); (Б) пацієнти з загостренням хронічного поліпозного риносинусита (пунктирна лінія).

У ході дослідження встановлено, що при обох формах хронічного риносинуситу спостерігаються схожі зміни зі сторони фосфоліпідного бішару мембран еритроцитів. Аналіз стану еритроцитарних мембран не виявив змін в області розташування зондів O1O і O6O, тобто в області гліцеринових залишків фосфоліпідів (ближче до центру ліпідного бішару), в області карбонільних груп фосфоліпідів і в області жирнокислотних ланцюжків фосфоліпідів. У той же час спостерігається зменшення кількості молекул зонду RH7, що зв'язалися з мембраною еритроцита у ході інкубації як при ХПР, та і при гнійній формі, що вказує на те, що швидкість зв'язування зонду RH7 з мембраною знижується.

Незважаючи на схожість змін, що були виявлені при аналізі еритроцитарних мембран еритроцитів методом флуоресцентних зондів при обох формах патології, ми можемо констатувати, що зміни в області локалізації зонда RH7 більш виражені при ХПР.

Отже, зниження швидкості зв'язування найбільш ліпофільного (RH7) з використаних зондів може бути обумовлено збільшенням ступеня гідратації найбільш полярної області мембрани: області полярних головок фосфоліпідів. Подібне збільшення гідратації викликано порушенням структури найбільш полярної області мембрани як при ХГР, так і при ХПР. Однак, слід відмітити, що ступінь гідратації області головок фосфоліпідів мембран еритроцитів більш виразна саме при поліпозній формі.

3.4. Оцінка стану мембран епітелію синоназального тракту методом флуоресцентних зондів

Для оцінки стану мембран клітин епітелію слизової оболонки носа хворих на ХПР та ХГР був застосований 2,5-дифеніл-1,3-оксазолу–флуоресцентний зонд (зонд O1O), який використовувався й для дослідження мембран еритроцитів.

Результати вимірювань флуоресценції зонда у суспензіях, що містять епітеліальні клітини синопназального тракту пацієнтів з ХПР та ХГР і клітини епітелію слизової оболонки носа контрольної групи, наведені на рис. 3.4.

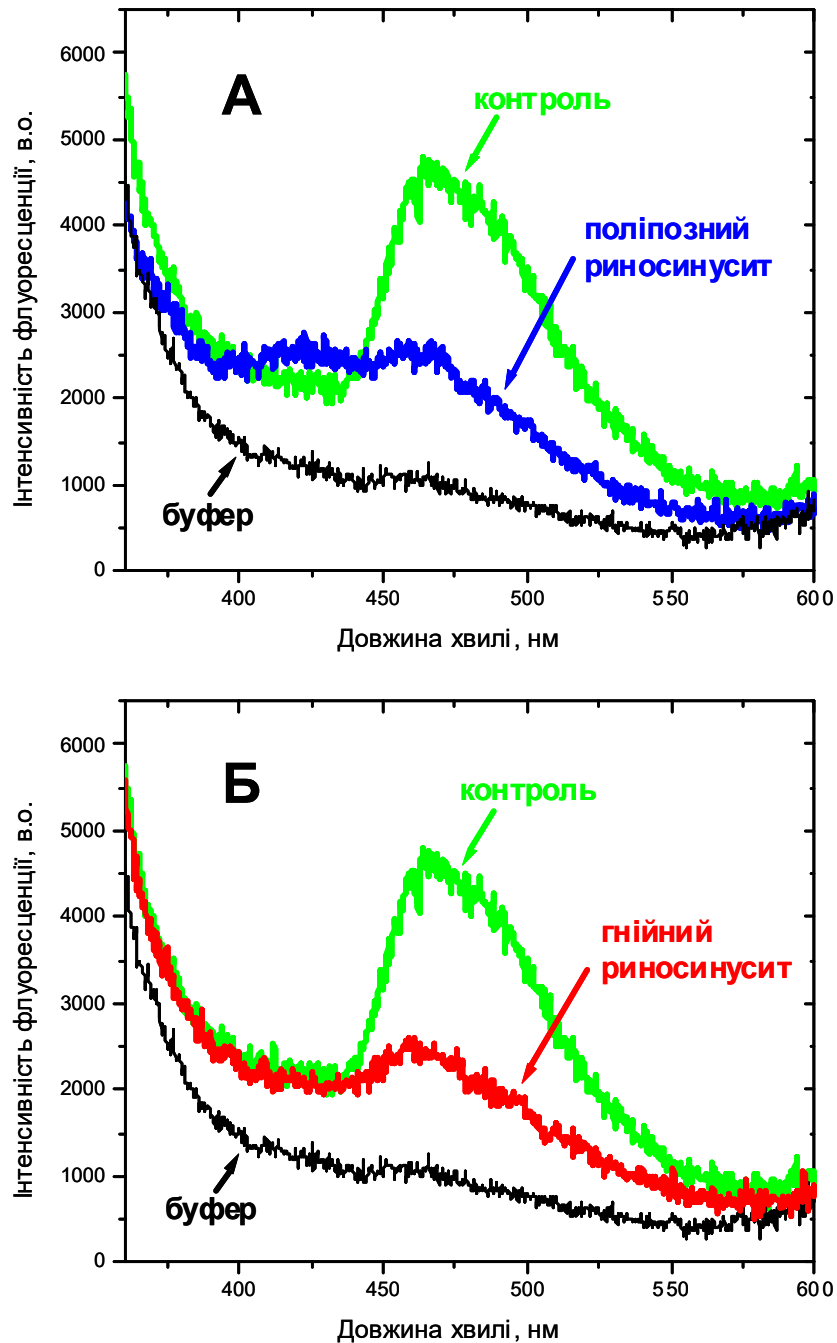


Рис. 3.4 . Спектри флуоресценції зонда O1O у суспензіях, що:

(А) містять клітини епітелію слизової оболонки носа здорових людей з викривленням носової перетинки (контрольна група);

(Б) містять клітини епітелію слизової оболонки носа пацієнта з ХПР та ХГР (дослідна група);

(В) що не містять клітин епітелію слизової оболонки носа (буферний розчин).

Панель А – хронічний поліпозний риносинусит,

Ппанель Б – хронічний гнійний риносинусит.

Як видно на рис. 3.4 А, при розвитку ХПР спостерігаються зміни спектра флуоресценції зонда О1О у порівнянні з відповідним спектром у контрольній групі. При патології, що досліджується, спостерігаються такі зміни спектра: (А) збільшення інтенсивності короткохвильової (~ 420 нм) смуги флуоресценції (флуоресценція нормальної форми зонда [210]) – ця зміна свідчить про збільшення протонодонорної здатності мікрооточення зонда; (Б) короткохвильовий (тобто гіпсохромний) зсув довгохвильової (~ 465 нм) смуги флуоресценції зонда (флуоресценція фототаутомерної форми зонда [210]) – така зміна є індикатором збільшення полярності мікросередовища; (В) значне (майже дворазове) зменшення інтенсивності довгохвильової смуги флуоресценції зонда, яке в даному випадку вказує як на збільшення протонодонорної здатності, так і на зменшення в'язкості оточення зонда в ліпідному шарі.

Збільшення протонодонорної здатності, збільшення полярності і зменшення в'язкості мікрооточення зонда свідчать про те, що при розвитку ХПР відбувається збільшення гідратованості мембрани епітеліальних клітини слизової оболонки носа в області гліцеринових залишків фосфоліпідів та карбонільних груп фосфоліпідів і в області жирнокислотних ланцюжків фосфоліпідів, які є прилеглими до області карбонільних груп.

Збільшення гідратованості вищеперерахованих областей мембрани дозволяє припустити, що при розвитку патологічного процесу в організмі відбувається збільшення гідратації в більш поверхневої області мембрани, а саме найбільш полярної області мембрани клітини епітелію слизової оболонки носа: області полярних головок фосфоліпідів.

Як видно з рис. 3.4 Б, при ХГР спостерігаються зміни спектра флуоресценції зонда О1О в порівнянні з відповідним спектром контрольної групи. Встановлено наступні зміни спектра: (а) короткохвильовий зсув довгохвильової (~ 465 нм) полоси флуоресценції зонда (флуоресценція фототаутомерної форми зонда [210]) – ця зміна є індикатором збільшення полярності мікросередовища; (Б) значне зменшення інтенсивності довгохвильової смуги флуоресценції зонда О1О, яке в даному випадку вказує на зменшення в'язкості оточення зонда в ліпідній мембрані.

Найбільш імовірною причиною вищезазначеного збільшення полярності і зменшення в'язкості мікрооточення зонда ХГР є збільшення гідратованості мембрани клітини епітелію слизової оболонки носа в області гліцеринових залишків фосфоліпідів та карбонільних груп фосфоліпідів, і в області жирнокислотних ланцюжків фосфоліпідів, що прилягають до області карбонільних груп. Таке збільшення гідратованості перерахованих областей мембрани дозволяє припустити, що в ході розвитку патологічного процесу в організмі відбувається збільшення гідратації у більш поверхневій області мембрани, найбільш полярній області мембрани епітеліальних клітин порожнини носу, а саме області полярних головок фосфоліпідів.

Таким чином, встановлено, що при ХІР та ХГР відбувається збільшення гідратованості мембрани клітини слизового епітелію в області гліцеринових залишків фосфоліпідів, карбонільних груп фосфоліпідів і в області жирнокислотних ланцюжків фосфоліпідів, що прилягають до області карбонільних груп.

Отримані результати дозволяють зробити припущення, що в ході розвитку патологічного процесу в організмі відбувається збільшення

гідратації найбільш полярної області мембрани клітини епітелію слизової оболонки носа: області полярних головок фосфоліпідів.

Висновки до розділу 3:

1. Розвиток ХПР та ХГР супроводжується активацією процесів ПОЛ, яке більш виразніше при гнійній формі захворювання, про що свідчить підвищення концентрації ТБК-активних продуктів у 1,6 раз та 1,9 рази відповідно та ДК у 1,65 рази при ХПР і в 2,1 рази при ХГР.
2. ХГР у стадії загострення та ХПР характеризуються підвищення маркера ПОЛ та оксидативного стресу 8-ізопростану в сироватці крові (в 2,2 рази та 1,8 раз відповідно) у порівнянні з контрольною групою.
3. Аналіз ЗАА крові у пацієнтів з ХПР та ХГР продемонстрував достовірне зниження даного параметру у обох групах хворих в порівнянні з контролем на 21,2% та 39,4% відповідно.
4. Вміст гормону-антиоксиданту гіпофіза мелатоніну у сироватці крові при загостренні ХГР та при ХПР достовірно знижувався у порівнянні з відносно здоровими людьми.
5. Активація процесів ПОЛ та фоні зниження активності АОС при ХГР та ХПР вказують на розвиток оксидативного стресу, інтенсивність якого більша при гнійній формі у порівнянні з поліпозною .
6. У ході дослідження стану мембран еритроцитів методом флуоресцентних зондів встановлено, що при обох формах хронічного риносинуситу спостерігаються схожі зміни збоку фосфоліпідного бішару мембран еритроцитів. Спостерігається збільшення ступеня гідратації найбільш полярної області цитоплазматичної мембрани еритроцита: області полярних голівок фосфоліпідів.
7. При аналізі мембрани клітин епітелію слизової оболонки носа встановлено, що в організмі хворих на ХПР та ХГР відбувається збільшення

гідратації найбільш полярної області мембрани: області полярних голівок фосфоліпідів.

Основні наукові результати розділу висвітлені в наступних публікаціях [17, 23, 25, 30, 31, 32, 34].

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ЦИТОКІНОВОГО ТА ХЕМОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ СИРОВАТКИ КРОВІ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПОЛІПОЗНИЙ ТА ГНІЙНИЙ РИНОСИНУСИТ У СТАДІЇ ЗАГОСТРЕННЯ

4.1. Вивчення спектру прозапальних цитокінів та хемокінів сироватки крові при гнійній та поліпозній формі хронічного риносинуситу

Гострі та хронічні запальні процеси будь-якого генезу характеризуються змінами цитокінового профілю сироватки крові [40; 41; 77, 213]. Баланс між різноманітними прозапальними та протизапальними цитокінами регулює інтенсивність запального процесу, рекрутування нових імунокомпетентних клітин, перехід його з гострої стадії у хронічну, тощо [246]. Для комплексної оцінки цитокінової та хемокінової систем, їх ролі у патогенезі захворювання та інформативності визначення концентрації цитокінів та хемокінів з діагностичною метою у хворих на обидві досліджувані форми хронічного риносинуситу проведено визначення фракталкіна, MCP-1, ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10, ІЛ-12 у сироватці крові.

Аналіз вмісту прозапальних цитокінів ФНП- α та ІЛ-1 β у крові хворих на ХГР у стадії загострення та ХПР продемонстрував, що зміни даних параметрів мають схожу динаміку. Так, у пацієнтів з ХПР спостерігалось підвищення рівню даних маркерів у порівнянні з контролем. Концентрація ФНП- α сягала 7,68 [5,93; 8,84] нг/мл на фоні 3,92 [1,19; 6,89] у контрольній групі при $p < 0,001$ (рис. 4.1). Таким чином, рівень ФНП- α у сироватці крові був майже вдвічі вищий при ХПР у порівнянні з контролем. Вміст сироваткового ІЛ-1 β також статистично достовірно ($p < 0,001$) підвищувався у 2,6 рази. У контрольній групі він дорівнював 2,64 [0,84; 5,43] нг/мл, у той час як у хворих на ХПР підвищувався до 6,87 [4,35; 11,77] нг/мл (рис. 4.2).

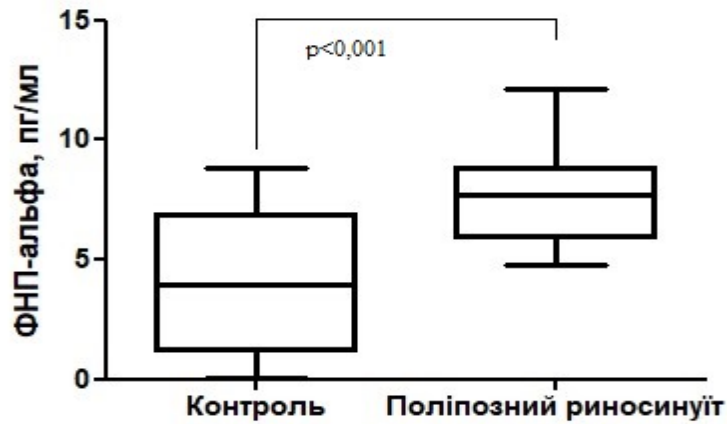


Рис. 4.1. Рівень ФНП- α у сироватці крові хворих на хронічний поліпозний риносинусит.

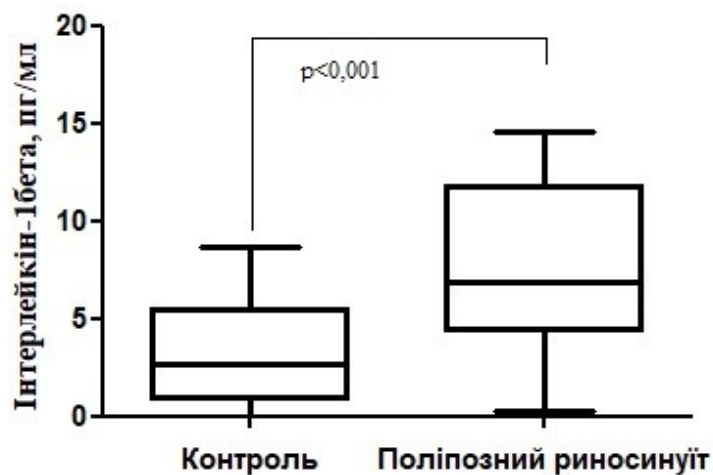


Рис. 4.2. Рівень ІЛ-1 β у сироватці крові хворих на хронічний поліпозний риносинусит.

Щодо гнійної форми захворювання, то вона також характеризувалась збільшенням рівнів обох цитокінів у сироватці крові. Встановлено, що вміст ФНП- α у сироватці крові пацієнтів з загостренням ХГР достовірно перевищує аналогічний показник контрольної групи у 3,6 рази та дорівнює 14,08 [8,93; 18,32] нг/мл (рис. 4.3). У той же час, сироваткова концентрація

ІЛ-1 β при гнійній формі риносинуситу сягає 7,46 [2,83; 13,72] нг/мл, що у 2,8 рази вище, ніж у контрольній групі (рис. 4.4).

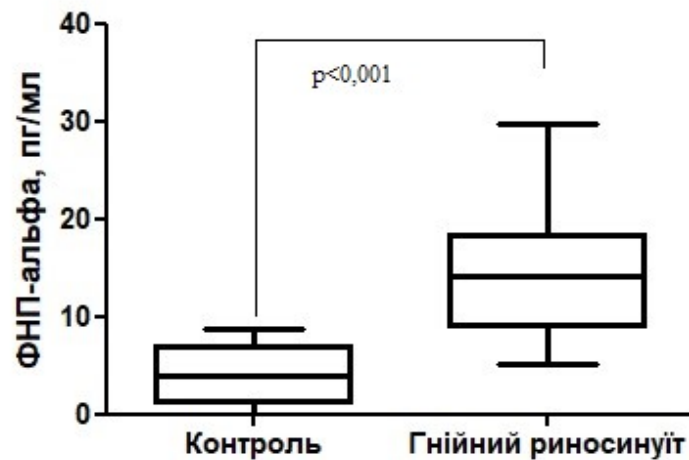


Рис. 4.3. Концентрація ФНП- α у сироватці крові хворих на хронічний гнійний риносинусит у стадії загострення та контрольній групі.

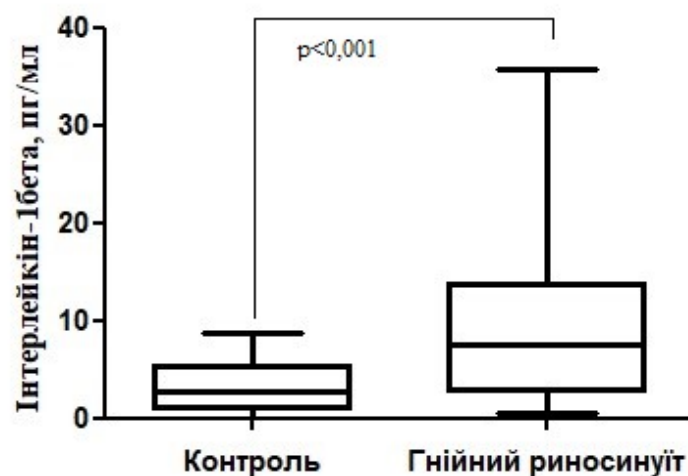


Рис. 4.4. Вміст ІЛ-1 β у сироватці крові хворих при загостренні хронічного гнійного риносинуситу та контрольній групі.

Відомо, що ФНП- α та ІЛ-1 β – поліпептиди, що характеризуються плейотропною дією, впливом на багаточисельні клітинні функції, здатністю регулювати експресію генів інших факторів білкової природи й тим самим регулювати імунну відповідь [146]. Вищезазначені цитокіни мають

прозапальну активність та синтезуються декількома видами клітин, зокрема еозинофілами, нейтрофілами, епітеліальними клітинами, моноцитами та макрофагами [41; 55]. У багатьох роботах показана ключова роль ФНП- α у регуляції комплексної імунної відповіді та взаємодії імунних клітин при багатьох запальних процесах різного генезу [67, 274]. Таким чином, підвищення вмісту ФНП- α та ІЛ-1 β у сироватці крові хворих на гнійну та поліпозну форми хронічного риносинуситу вказує на те, що запальний процес у пацієнтів протікає в активній фазі. Ці цитокіни діють синергічно у регуляції імунної відповіді. Оскільки їх рівень у сироватці крові при ХГР вище, ніж при ХПР, можна зробити висновок про більшу інтенсивність запального процесу саме при гнійній формі.

Підвищення вмісту ФНП- α та ІЛ-1 β у сироватці крові може бути обумовлено активацією їх експресії під дією АФК. Загальновідомим є факт, що продукція прозапальних цитокінів імунокомпетентними клітинами регулюється у тому числі й редокс-станом клітини [258]. Розвиток оксидативного стресу при ХГР у стадії загострення та ХПР, що описаний у розділі 3, призводить до активної експресії ФНП- α та ІЛ-1 β . Проте взаємодія між прозапальними цитокінами та АФК не лімітується лише стимулюючим впливом останніх на синтез ФНП- α та ІЛ-1 β та має комплексний характер. Спостерігається ще й зворотній ефект. ФНП- α та ІЛ-1 β активують генерацію АФК, що призводить до виникнення порочного кола [258]. Беручи до уваги більш вираженіше підвищення вищезазначених цитокінів саме при гнійній формі захворювання на фоні більш помітних порушень зі сторони прооксидантно/антиоксидантної системи, можна зробити висновок про значну роль взаємодії ФНП- α , ІЛ-1 β та АФК в реалізації імунної відповіді при ХГР у порівнянні з ХПР.

Відомо, що ФНП- α залучений у реалізацію як Th₁- клітинного (більшою мірою), так і Th₂- гуморального типу імунної відповіді, що обумовлює підвищення даного цитокіна як при гнійній формі, що характеризується переважанням клітинного типу та нейтрофільним

запаленням, так й при поліпозній формі, для якої характерним є еозинофільне запалення з переважанням Th₂- запалення [142, 243]. Значніше підвищення вмісту ФНП-α у сироватці крові хворих з ХГР при порівнянні з ХПР свідчить про значнішу роль клітинно-опосередкованого компоненту запалення при ХГР. Оскільки основним джерелом генерації ФНП-α є еозинофіли, синтез ФНП-α цими клітинами призводить до збільшення пулу цитокіну, який активує експресію васкулярної молекули клітинної адгезії – 1(VCAM-1), що вносить вклад до рекрутування нових еозинофілів шляхом стимуляції їх міграції до зони запалення [149].

Підтверджено, що ІЛ-1β вносить вклад у нейтрофільний характер запалення [144]. Більш виражене підвищення вмісту ІЛ-1β у сироватці хворих на ХГР у стадії загострення у порівнянні з ХПР спонукають до залучення нейтрофілів у патологічний процес й обумовлюють відомий нейтрофільний характер запалення при гнійній формі хронічного риносинуситу. Відомо, що АФК необхідні для вивільнення ІЛ-1β з нейтрофілів [181]. Таким чином, більш різке підвищення концентрації цього цитокіну при ХГР можна пояснити порушеннями редокс-рівноваги.

Роль ФНП-α та ІЛ-1β при хронічному риносинуситі також може полягати у опосередкованому залученні у запалення нових макрофагів через індукцію синтезу хемокіна для моноцитів та макрофагів МСР-1, зміни вмісту якого у сироватці хворих на ХПР та ХГР описані нижче. Загальновідомим є той факт, що ФНП-α та ІЛ-1β реалізують свої внутрішньоклітинні ефекти у тому числі й через фактор транскрипції NF-κB, який регулює експресію багатьох прозапальних факторів [131]. Однією з таких прозапальних молекул є МСР-1 – хемокін, основною біологічною роллю якого є регуляція хемотаксису макрофагів [223]. Таким чином, підвищення вмісту МСР-1 у хворих на ХГР та ХПР, яке описано нижче, частково може бути обумовленим дією ФНП-α та ІЛ-1β.

У ході проведення дослідження виявлено, що вміст ІЛ-8 у сироватці крові хворих на гнійний хронічний риносинусит у період загострення

достовірно ($p < 0,05$) підвищується в 3,6 рази у порівнянні з контрольною групою. Концентрація ІЛ-8 при загостренні хронічного гнійного риносинуситу становила $35,3 \pm 6,7$ пг/мл (рис. 4.5). У хворих на ХПР спостерігалось статистично достовірне ($p < 0,05$) зниження даного показника у 2,65 рази (рис. 4.6). Так, рівень ІЛ-8 при поліпозній формі зменшувався до $3,68 \pm 0,40$ пг/мл на фоні $9,77 \pm 1,32$ пг/мл у контрольній групі. Подібні зміни свідчать про значну роль ІЛ-8 в розвитку запалення при гнійному процесі, і незначний вклад цього хемокіну у розвиток поліпів. Оскільки ІЛ-8 є хемокіном і основним атрактантом для нейтрофілів [73; 99; 173], його роль у розвитку гнійного риносинуситу полягає у залученні нових нейтрофілів і підтримці високої інтенсивності запалення саме за рахунок нейтрофілів. У той же час при поліпозному риносинуситі домінує еозинофільне запалення [231], що знижує роль нейтрофілів і, як наслідок, цей тип риносинуситу супроводжується зниженням вмісту сироваткового ІЛ-8. Отож, наші дані узгоджується з результатами інших досліджень, що характеризують гнійний риносинусит як нейтрофільне запалення, а поліпозну форму - як еозинофільне запалення [76, 231].

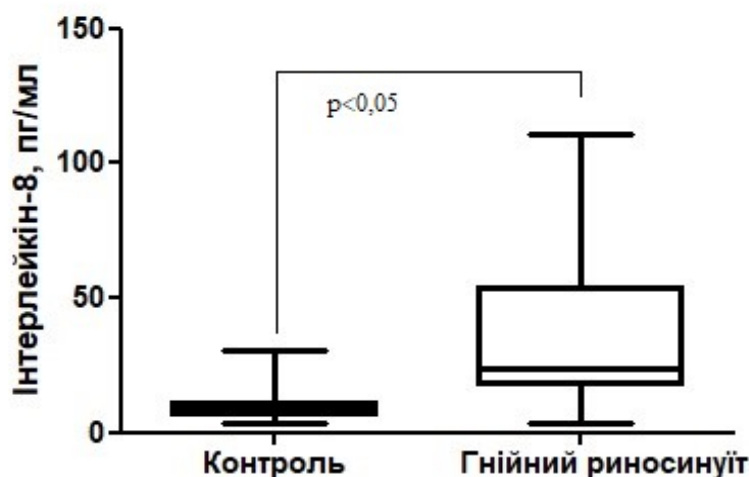


Рис. 4.5. Концентрація ІЛ-8 у сироватці крові хворих на хронічний гнійний риносинусит у стадії загострення та в контрольній групі.

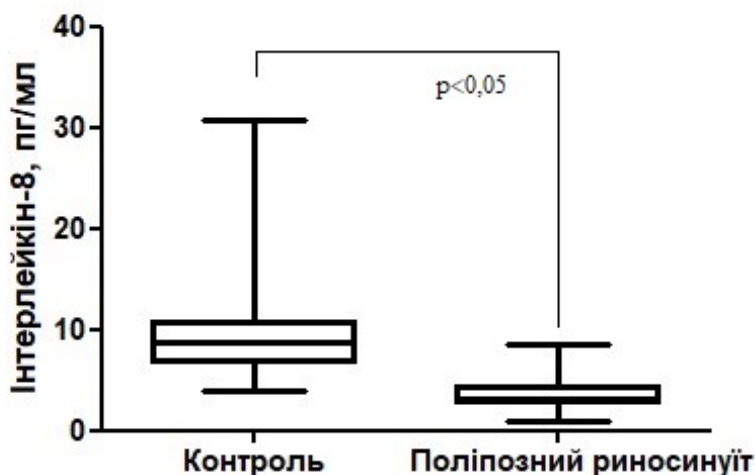


Рис. 4.6. Концентрація ІЛ-8 у сироватці крові хворих на хронічний поліпозний риносинусит та в контрольній групі.

Вміст ММР-9 в крові як у хворих з гнійним, так і з поліпозним хронічним риносинуситом був вище, ніж у контрольній групі. Так, концентрація ММР-9 в крові хворих при загостренні гнійної форми захворювання збільшується на 235% (Розділ 5), що вказує на ремоделювання позаклітинного матриксу і на фоні підвищення МСР-1 та збільшення індексу МСР-1/ММР-9 дозволяє зробити висновок про активацію проліферації позаклітинного матриксу та розвиток фіброзу у хворих (Розділ 5).

Відомо, що ІЛ-8 стимулює активацію ММР-9, а також вивільнення ММР-9 з гранул нейтрофілів [69]. Для перевірки припущення, що подібна закономірність характерна і для хронічного гнійного риносинуситу, був проведений кореляційний аналіз, в ході якого було виявлено наявність сильного позитивного кореляційного зв'язку між вмістом ММР-9 і рівнем ІЛ-8 в сироватці крові хворих при загостренні хронічного гнійного риносинуситу ($r = + 0,71$). Подібне значення коефіцієнту кореляції Спірмена у даному випадку дозволяє припустити участь ІЛ-8 у процесах регуляції ремоделювання позаклітинного матриксу шляхом активації вивільнення ММР-9 з гранул нейтрофілів при зазначеній патології.

У результаті аналізу вмісту ІЛ-12 у сироватці крові хворих встановлено, що у пацієнтів з ХПР відбувалось підвищення сироваткової концентрації ІЛ-12 у 2,6 рази, у той час як у пацієнтів з ХГР у стадії загострення він вдвічі більший (рис. 4.7; рис. 4.8).

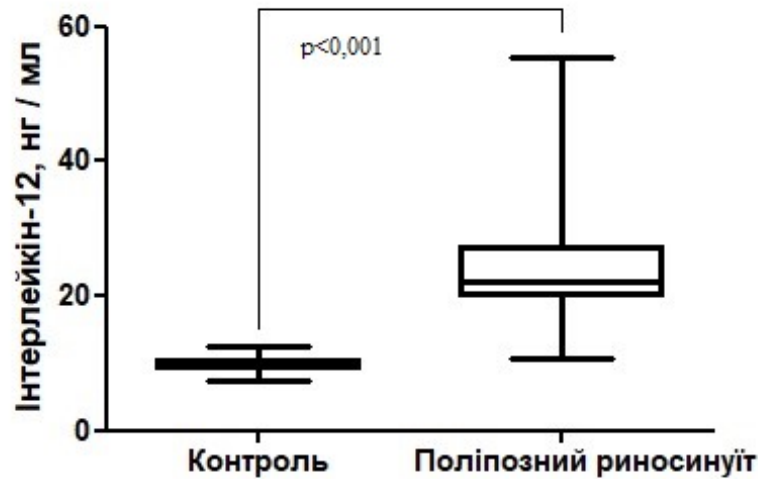


Рис. 4.7. Вміст ІЛ-12 у сироватці крові пацієнтів з хронічним поліпозним риносинуситом та контрольній групі.

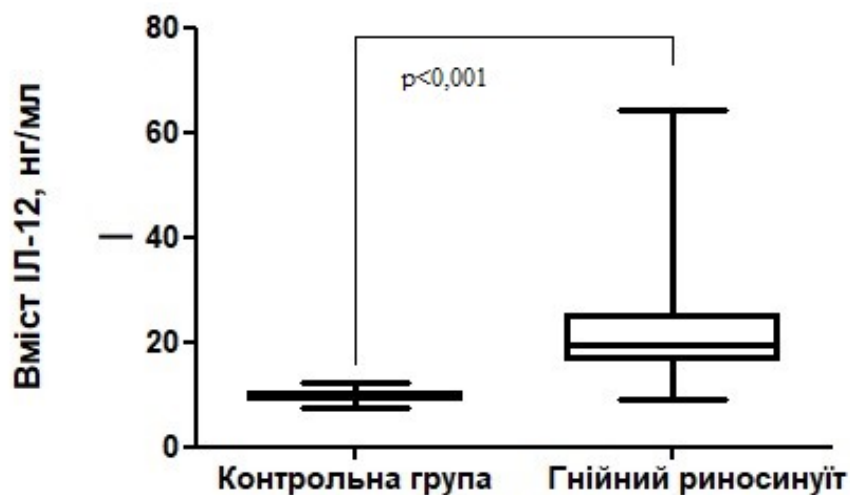


Рис. 4.8. Вміст ІЛ-12 в сироватці крові у хворих на хронічний гнійний риносинусит у стадії загострення та контрольній групі.

Побідна зміни у вмісті ІЛ-12 можуть розглядатися як активація клітинно-опосередкованої імунної відповіді на збудників бактеріальної, вірусної та грибової природи, що викликають розвиток захворювання, оскільки саме цей цитокін залучений у запуск імунної відповіді шляхом диференціювання незрілих Т-хелперів.

Менш виражена активації ІЛ-12 на фоні значної гіперпродукції ІЛ-8 (див. вище) в цілому може розглядатися як активація саме клітинної ланки імунітету при гнійній формі хронічного риносинуситу, оскільки недостатньо вираженіше підвищення ІЛ-12 при ХПР у порівнянні з ХГР нівелюється вираженим підвищенням ІЛ-8, рівень якого у сироватці крові знижено при ХПР. Отримані дані щодо переважання клітинної ланки імунітету та здвигу імунної відповіді у Th1 бік при гнійному запаленні синоназального тракту узгоджуються з результатами інших авторів [76, 235].

У ході дослідження встановлено підвищення вмісту фракталкіну у сироватці крові як при гнійному хронічному риносинуситі у стадії загострення, так і при поліпозній формі. Рівень досліджуваного хемокіну досягав $73,72 \pm 10,29$ пг/мл при загостренні гнійної форми на фоні $21,7 \pm 0,54$ пг/мл у контролю (рис. 4.9).

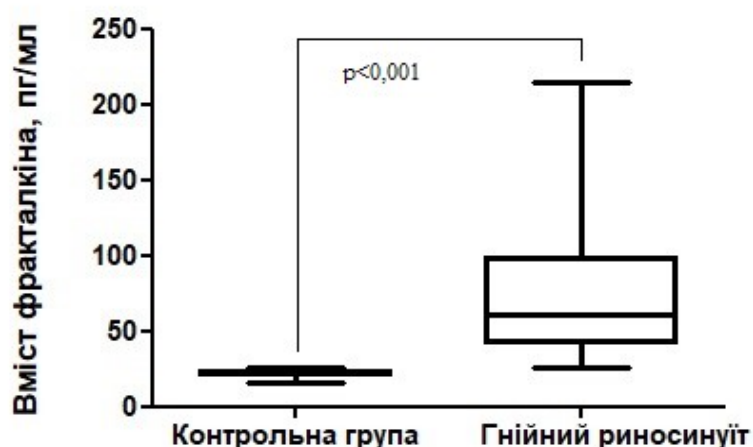


Рис. 4.9. Вміст фракталкіна у сироватці крові у хворих на хронічний гнійний риносинусит у стадії загострення та групі контролю.

При поліпозному хронічному риносинуситі вміст сироваткового фракталкіну у 2,63 рази переважав аналогічний показник контрольний групи і досягав $57,25 \pm 4,565$ пг/мл (рис. 4.10).

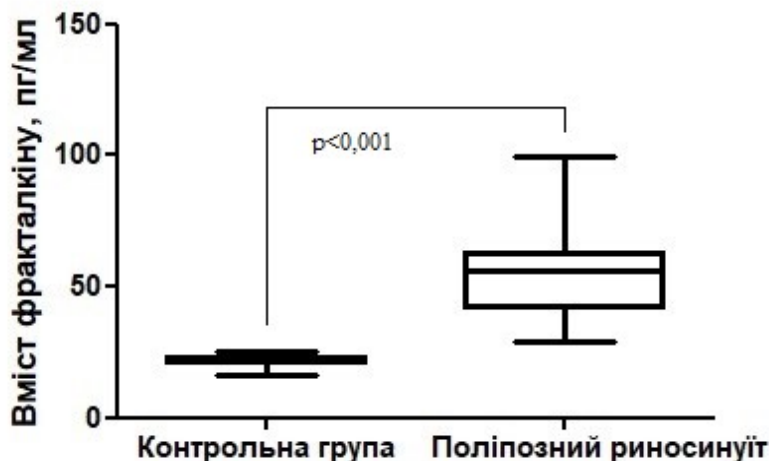


Рис. 4.10. Вміст фракталкіну у сироватці крові хворих хронічний поліпозний риносинусит та групі контролю.

Таким чином, аналіз цитокинового спектру сироватки хворих на досліджувані форми хронічного риносинуситу дозволяє припустити активне залучення моноцитів, НК-клітин і Т-кілерів у розвиток імунної відповіді при риносинуситі, оскільки фракталкін стимулює хемотаксис саме вищезазначених клітин [87, 272]. На додаток до хемоатрактантних властивостей, внесок фракталкіна в інтенсифікацію запального процесу при загостренні ХГР та при поліпозній формі захворювання може полягати в стимуляції адгезії імунокомпетентних клітин на поверхню ендотеліоцитів мікросудин в зоні запалення та їх подальшій екстравазації. Т. Imai et al показали здатність ФНП-альфа та ІЛ-1, підвищення яких також встановлено у даній роботі, індукувати експресію фракталкіна [257]. Таким чином, можна припустити залученість ФНП-альфа та ІЛ-1бета у продукцію фракталкіну при риносинуситах. Таким чином, посилена продукція CX3CL1 при обох формах хронічного риносинуситу є компонентом комплексу прозапальних ефектів даних цитокінів.

Визначення концентрації МСР-1 у сироватці крові хворих із загостренням гнійної форми хронічного риносинусита показало, що дане захворювання супроводжується статистично достовірними ($p < 0,001$) підвищенням концентрації досліджуваного хемокину. У пацієнтів із загостренням ХГР даний показник становив $444,7 \pm 64,28$ нг/мл, що в 8,76 рази більше ніж у контрольної групи у якої він $50,74 \pm 0,74$ нг/мл (рис. 4.11), що вказує на залучення даного цитокину в патогенез загострення хронічного гнійного риносинусита, яке може полягати у підтриманні інтенсивності запального процесу синопазального тракту шляхом рекрутування нових моноцитів з їх наступною трансформацією у макрофаги.

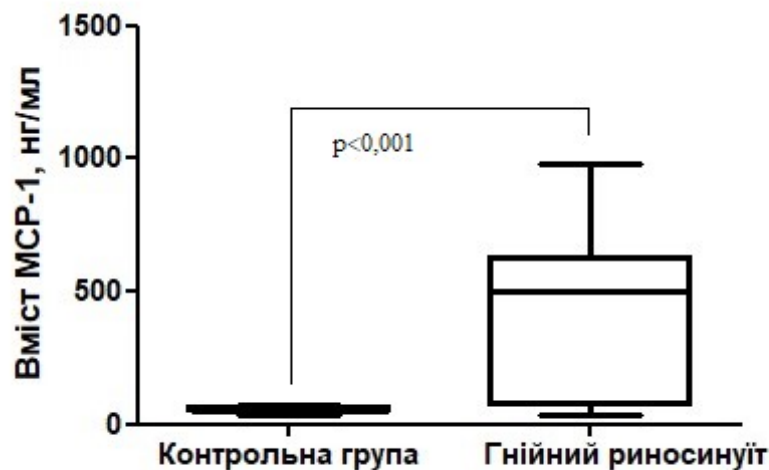


Рис. 4.11. Вміст МСР-1 у сироватці крові здорових людей та хворих на хронічний гнійний риносинусит у стадії загострення.

При розвитку поліпозної форми хронічного риносинуситу спостерігається семикратне підвищення вмісту МСР-1 у сироватці крові. Сироваткова концентрація МСР-1 у хворих досягає $351 \pm 40,98$ нг/мл на фоні $50,74 \pm 0,74$ нг/мл у контролю, що також вказує на значну роль даного хемокину у прогресуванні поліпозного риносинуситу (рис. 4.12).

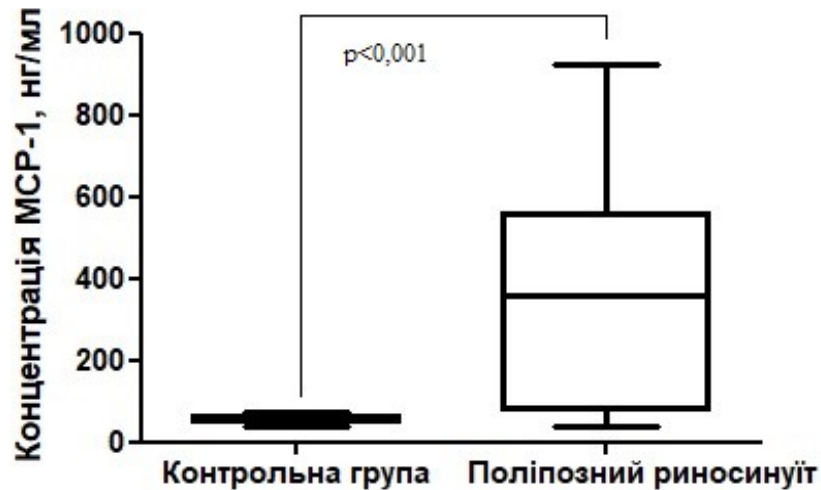


Рис. 4.12. Рівень MCP-1 у сироватці крові здорових людей та хворих на хронічний поліпозний риносинусит.

Аналізуючи вміст MCP-1 у сироватці крові при різних формах хронічного риносинуситу, слід відмітити більш виражену роль MCP-1 у хемоатракції моноцитів до зони запалення саме при загостренні гнійного риносинуситу на що вказує значніше підвищення даного хемокіну при гнійній формі у порівнянні з поліпозним риносинуситом.

4.2. Вивчення спектру протизапальних цитокінів сироватки крові хворих на ХГР у стадії загострення та ХПР

При аналізі вмісту протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10 у хворих на досліджувані форми хронічного риносинуситу встановлено, що ХГР у стадії загострення не супроводжується достовірними ($p > 0,05$) змінами циркулюючого ІЛ-4. Цей показник у хворих на ХГР дорівнював 0,72 [0,39; 1,59] нг/мл на фоні 0,66 [0,53; 1,21] нг/мл у контрольній групі (табл. 4.13). Статистично значущих ($p > 0,05$) змін між рівнями ІЛ-4 у хворих на поліпозну форму хронічного риносинуситу та здорових людей з контрольної групи також не було знайдено. У хворих на ХПР цей показник

дорівнює 0,94 [0,73; 1,27] нг/мл (табл. 4.14). Таким чином, спостерігається тенденція до підвищення вмісту протизапального цитокіну ІЛ-4 у хворих як на гнійну, так і на поліпозну форми. Однак, виявлені зміни не є статистично достовірними.

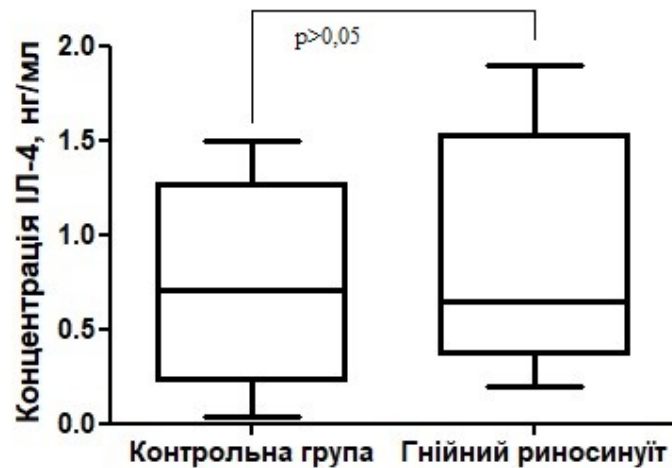


Рис. 4.13. Концентрація ІЛ-4 у сироватці крові хворих на хронічний гнійний риносинусит у стадії загострення та контрольній групі.

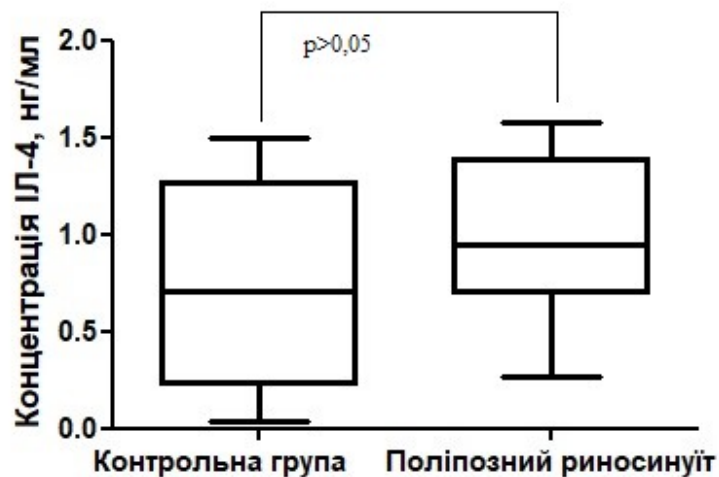


Рис. 4.14. Вміст ІЛ-4 у сироватці крові хворих на хронічний поліпозний риносинусит та контрольній групі.

Зміни вмісту ІЛ-10 у сироватці крові мають схожий характер. У ході дослідження не вдалось виявити статистично достовірних ($p > 0,05$) змін вмісту ІЛ-10 у сироватці крові хворих на загострення ХГР. При загостренні ХГР вищезазначений показник складав 6,22 [4,92; 6,83] нг/мл проти 5,46 [5,06; 6,33] нг/мл у контролю (табл. 4.15). Рівень циркулюючого ІЛ-10 при поліпозній формі захворювання також статистично ($p > 0,05$) не відрізнявся від контрольної групи. Вміст цього інтерлейкіну у сироватці крові пацієнтів з ХПР становив 6,02 [4,91; 7,33] нг/мл (табл. 4.16).

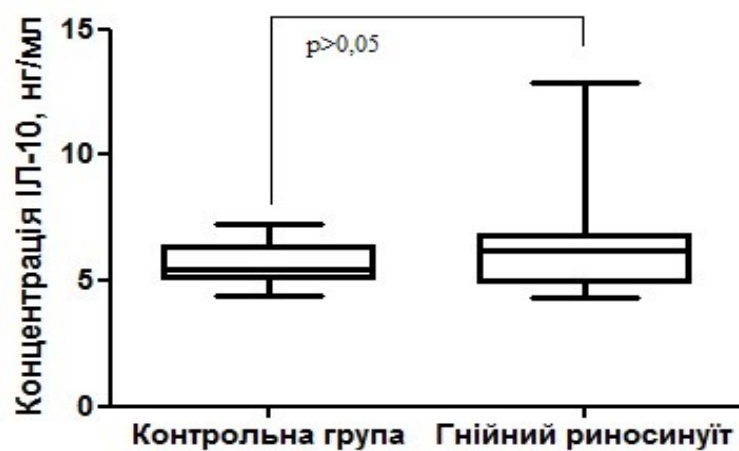


Рис. 4.15. Рівень ІЛ-10 у сироватці крові хворих при загостренні хронічного гнійного риносинуситу та контрольній групі.

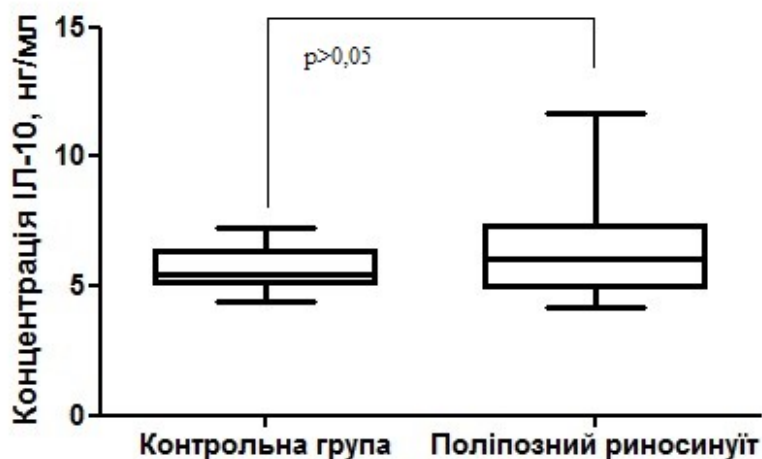


Рис. 4.16. Концентрація ІЛ-10 у сироватці крові хворих на хронічний поліпозний риносинусит та контрольній групі.

Цікаво відмітити, що дані щодо вмісту ІЛ-4 узгоджуються з результатами інших досліджень. Згідно з результатами досліджень Nabavi M et al., при ХПР не спостерігається достовірного підвищення ІЛ-4 у порівнянні з контролем [137]. Достовірних змін вмісту ІЛ-10 при обох формах риносинуситу також не спостерігалось у дослідженні Punagi AQ та Rahardjo SP [208].

Отримані результати щодо рівнів протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10, які підтверджуються даними інших досліджень, вказують на дисбаланс між про- та протизапальними цитокинами при ХПР та ХГР. Таким чином, відсутність компенсаторного підвищення ІЛ-4 та ІЛ-10 у відповідь на збільшення вмісту ключових прозапальних цитокінів ФНП- α та ІЛ-1 β у сироватці крові може призводити до посилення імунної відповіді з пошкодженням тканин при риносинуситах. Зокрема, баланс між ІЛ-10 та ФНП- α , які відіграють протилежну роль, важливий для підтримання імунного гомеостазу, а підвищення експресії ІЛ-10 компенсує збільшення вмісту ФНП- α з метою протидіяти пошкодженню тканин організму [262]. Оскільки ІЛ-10 має здатність інгібувати синтез ФНП- α моноцитами та макрофагами [143, 145], можливо висунути гіпотезу про підтримання рівня запалення при хронічному риносинуситі у тому числі й за рахунок високої секреції ФНП- α , частково обумовленої відсутністю інгібуючого впливу протизапального ІЛ-10.

Відомо, що ІЛ-4 регулює альтернативну активацію макрофагів. На відміну від класично активованих макрофагів, які беруть участь у Th₁-імунній відповіді з підвищенням вмісту прозапальних цитокінів, альтернативно активовані макрофаги протидіють запаленню шляхом генерацій зокрема й ІЛ-10 [244]. Як можна побачити з результатів дослідження, ХПР та ХГР у стадії загострення не супроводжується активацією, по меншій мірі на системному рівні, протизапальної ІЛ-4 – ІЛ-10 вісі з перепрограмуванням макрофагів альтернативним протизапальним шляхом. Це призводить до гіперекспресії прозапальних цитокінів,

підвищення яких спостерігається у сироватці крові, зміщення балансу у бік прозапальних факторів, що підтримує запальний процес у пацієнтів з ХПР та особливо з ХГР. Тим не менш, відсутність змін рівнів протизапальних цитокінів, що досліджувались, у системному кровотоці не обов'язково свідчить про відсутність локальних змін їх експресії безпосередньо у тканинах синоназального тракту, які залучені у запальний процес. Зокрема Ху J et al продемонстрували підвищену експресію мРНК ІЛ-10 у поліпах носа, що підкреслює значну роль даного інтерлейкіну у патогенезі ХПР [219]. Однак, подібні зміни експресії протизапальних цитокінів мають локальний характер й не виходять на системний рівень, на відміну від змін прозапальних цитокінів та хемокінів, які описані вище.

Таким чином, цитокіновий спектр сироватки крові може віддзеркалювати імунологічний статус у хворих на ХПР та ХГР, оскільки імунна відповідь при хронічних риносинуситах визначається кооперацією та антагоністичною дією прозапальних та антизапальних цитокінів. Крім того, різноманітність змін цитокінового та хемокінових спектрів сироватки крові свідчить про те, що здається зовсім малоімовірним, що порушення регуляції продукції якогось одного цитокіну чи хемокіну може надати вплив на загальний баланс у роботі всієї імунної системи.

Отже, аналіз вмісту цитокінів, а також хемокінів, у сироватці крові хворих на ХПР та ХГР у стадії загострення свідчить про домінування прозапальних факторів.

Висновки до розділу 4:

1. ХГР та ХПР супроводжується підвищенням рівнів прозапальних цитокінів ФНПа та ІЛ-1 β у сироватці крові хворих, що вказує на інтенсивність запального процесу, більш вираженіше при загостренні гнійної форми захворювання.
2. При аналізі цитокінів, що залучені в регуляцію клітинно-опосередкованої імунної відповіді, встановлено, що при обох формах

відбувається підвищення сироваткової концентрації ІЛ-12 на фоні підвищення рівня ІЛ-8 в сироватці крові при ХГР та зниження при ХПР, що вказує на значнішу роль клітинно-опосередкованого імунітету в патогенезі гнійної форми риносинуситу.

3. ХПР та ХГР характеризуються підвищенням рівня хемокіну фракталкіну в сироватці крові, що свідчить про важливу роль даного хемокіну в залучення нових НК-клітин, Т-кіллерів та моноцитів до вогнища запалення.

4. У крові хворих на ХГР та ХГР також зростає рівень MCP-1 у сироватці крові у порівнянні з контрольною групою, що підкреслює залученість даного цитокіну в рекрутуванні нових моноцитів до зони запалення при хронічних риносинуситах.

5. На фоні вищезазначеної активації прозапальних цитокінів при ХГР та ХПР не було виявлено статистично достовірного підвищення вмісту проти запальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10 у порівнянні з контрольною групою, що вказують на виражений дисбаланс між про- та анти запальними цитокінами при ХГР та ХПР з переважанням перших.

Основні наукові результати розділу висвітлені в наступних публікаціях [13, 14, 15, 20, 21, 22, 23, 26, 33, 190].

РОЗДІЛ 5

ВИВЧЕННЯ КОМПОНЕНТІВ СИСТЕМИ ФІБРОЗУ/АНТИФІБРОЗУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПОЛІПОЗНИЙ ТА ГНІЙНИЙ РИНОСИНУСИТ У СТАДІЇ ЗАГОСТРЕННЯ

5.1. Вміст профібротичних та антифібротичних біохімічних маркерів у сироватці крові хворих на хронічний поліпозний та гнійний риносинусит у стадії загострення

Відомо, що хронічне запалення, у тому числі і синопозального тракту, супроводжується проліферацією екстрацелюлярного матриксу [200]. Ремоделювання позаклітинного матриксу – це динамічний процес, у основі якого лежать синтез та деградація компонентів сполучної тканини, наприклад, глікозаміногліканів (з переважанням гіалуронової кислоти) та протеоаміногліканів (перлекан, агрекан), неколагенових глікопротеїнів (таких як фібронектин, ламініни і тенасцин), колагену та багатьох інших молекул, які беруть участь у міжклітинних та клітинно-матриксних взаємодіях [57; 168]. Отже, розвиток фіброзу обумовлений дисбалансом між факторами, що стимулюють деградацію екстрацелюлярного матриксу, та факторами, що активують синтез компонентів сполучної тканини.

Деградація компонентів позаклітинного матриксу здійснюється під дією різноманітних ферментів, а саме металопротеїназ, катепсинів В, L, D, еластаз, сульфатаз, глікозидаз, тощо [66]. Сімейство матриксних металопротеїназ, яке включає 23 представники, залучене до процесу деградації колагену – основного компоненту позаклітинного матриксу – і розглядається в якості маркерів інтенсивності процесів деградації позаклітинного матриксу при хронічних запальних процесах різноманітної етіології [148, 167, 230]. Отже, один з представників сімейства металопротеїназ, а саме металопротеїназа-9 (ММП-9), був обраний для оцінки активності процесів деградації позаклітинного матриксу. Вибір

ММП-9 можна пояснити здатністю цього протеолітичного ферменту розщеплювати різні типи колагену, тим самим опосередковуючи фіброліз [265].

Для комплексної оцінки системи фіброзу/антифіброзу додатково використовували вимірювання профібротичного хемокіну MCP-1 у сироватці крові хворих. Крім здатності стимулювати залучення нових моноцитів у зону запалення, MCP-1 також активує експресію молекул колагену, що обумовлює його профібротичну дію. Таким чином, даний цитокін може виступати в якості маркера фіброзу [12].

Визначення рівнів MCP-1 у сироватці крові пацієнтів з хронічним поліпозним та гнійним риносинуситом у стадії загострення показало, що обидві форми захворювання супроводжуються статистично значущим ($p < 0,001$) підвищенням вмісту досліджуваного білка у порівнянні з контрольною групою (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Вміст MCP-1 та MMP-9 у сироватці крові здорових людей та хворих на хронічний поліпозний та гнійний риносинусит у стадії загострення ($M \pm m$)

Показники, одиниці вимірювання	Контрольна група	Хворі на хронічний гнійний риносинусит у стадії загострення	Хворі на хронічний поліпозний риносинусит
	n=20	n=20	n=20
Моноцитарний хемоатрактантний білок-1, пг/мл	50,74 ± 0,74	444,7 ± 64,28 **	351,00 ± 40,98**
Матриксна метало- протеїназа-9, нг/мл	3,28±0,47	7,72±0,40**	4,81±0,19*

Примітки: 1.* достовірність відмінностей відносно контролю ($p < 0,05$);

2.** достовірність відмінностей відносно контролю ($p < 0,001$).

Необхідно зазначити, що гнійна форма хронічного риносинуситу характеризується більш вираженою активацією хемокіну МСР-1 у порівнянні з поліпозною формою. Так, вміст МСР-1 у хворих на поліпозний риносинусит практично у сім разів перевищує концентрацію цього профібротичного фактору у контролі, у той час як при загостренні гнійного запалення синопозального тракту спостерігається дев'ятикратне підвищення МСР-1 у порівнянні з контрольною групою. Відомо, що хемокін МСР-1 бере участь у фібрилогенезі колагену [101, 241], і, отже, здатний сприяти проліферації позаклітинного матриксу. Таким чином, збільшення концентрації МСР-1 у сироватці хворих на обидві форми хронічного риносинуситу вказує на активацію фіброзних процесів.

При дослідженні вмісту ММП-9 у сироватці крові хворих на різні форми хронічного риносинуситу встановлено, що концентрація ММП-9 у хворих з поліпозним хронічним риносинуситом достовірно ($p < 0,05$) вища у 1,5 рази у порівняно з тим же параметром контрольної групи (табл. 5.1). У той же час при загостренні гнійного риносинуситу спостерігається статистичне значуще ($p < 0,001$) більш ніж дворазове підвищення сироваткового вмісту ММП-9, що вказує на більш виражену активацію, але все ж таки незначної інтенсивності, процесів деградації колагену позаклітинного матриксу. Подібні зміни вмісту ММП-9 у сироватці крові пацієнтів можуть бути пов'язані з його компенсаторною активацією у відповідь на підвищення рівня МСР-1 та інтенсифікацією МСР-1-залежного фіброзу.

Відомо, що експресія МСР-1 активується у відповідь на дію ФНП- α [221]. Цікаво відмітити, що більш виражене підвищення вищезазначених цитокінів характерне саме для гнійної форми захворювання. Отже, можна припустити, що ФНП- α вносить вклад у підвищення вмісту МСР-1 та, відповідно, у розвиток фіброзу. Окрім ФНП- α , підвищення вмісту МСР-1 може бути обумовлено розвитком оксидативного стресу, зважаючи на здатність АФК індукувати експресію МСР-1 [138]. Інтенсивне порушення

редокс-гомеостазу саме при гнійній формі хронічного риносинуситу на фоні більш вираженішого підвищення вмісту сироваткового МСР-1 дозволяє припустити залученість прооксидантів у регуляцію експресії профібротичного МСР-1 та моделювання позаклітинного матриксу. Таким чином, МСР-1-опосередкована активація фіброзу як при ХГР, так і ХПР може частково бути обумовленою порушеннями редокс-статусу з розвитком оксидативного стресу, а також дією прозапальних цитокінів, зокрема ФНП- α .

Підвищення вмісту ММП-9 у пацієнтів з обома формами хронічного риносинуситу може бути обумовлено розвитком оксидативного стресу та підвищенням вмісту прозапальних цитокінів. Враховуючи підвищення експресії ММП-9 при оксидативному стресі [139, 165], а також під впливом прозапальних ФНП- α та ІЛ-1 β [214, 239; 268], високий рівень ММП-9 у сироватці крові хворих на ХПР може бути зумовлений синергічною дією згаданих вище факторів на експресію ММП-9. Крім того, відомо, що експресія ММП-9 знижується під дією ІЛ-10 [141]. Таким чином, можна припустити, що експресія ММП-9 у пацієнтів з ХПР зазнає недостатню інгібуючу дію ІЛ-10, що може сприяти підвищенню даного протеолітичного ферменту у сироватці крові, що спостерігається в цьому дослідженні.

При ХГР більш виражене підвищення рівня ММП-9 у сироватці крові у порівнянні з ХПР спостерігається на фоні більш високих концентрацій прозапальних цитокінів ФНП- α та ІЛ-1 β та значних порушеннях у системі ПОЛ/АОС. Подібні зміни свідчать про значну роль ММП-9 у регуляції ремоделювання позаклітинного матриксу при гнійній формі захворювання та залученість вищезазначених цитокінів та окисного стресу у регуляцію ремоделювання сполучної тканини при ХГР. Недостовірні зміни рівня ІЛ-10 у сироватці крові хворих на ХГР вказують на відсутність інгібуючого впливу цього цитокіну на ММП-9 при даній патології.

Зміна рівноваги у системі фіброз-антифіброз з переважанням першого призводить до відповідного адаптивного перевиробництва антифібротичних

чинників. Однак, ми можемо помітити недостатню активацію металопротеїназ-опосередкованої ланки антифібротичної системи у хворих на ХГР у стадії загострення та ХПР, що вказує на практичне вичерпання компенсаторних можливостей та зміщення рівноваги у системі на користь формування фіброзу.

Для кількісної оцінки стану системи фіброзу/фібролізу при обох формах хронічного риносинуситу було розраховано співвідношення МСР-1 до ММП-9. Беручи до уваги профібротичну роль МСР-1 і антифібротичну активність ММП-9, підвищення коефіцієнту МСР-1/ММП-9 нами розглядалось як схильність сполучної тканини до проліферації та розвитку фіброзу. У представників контрольної групи даний індекс дорівнював 15,47. У хворих на хронічний гнійний риносинусит у стадії загострення співвідношення МСР-1/ММП-9 досягало 57,60, що вказує на значну гіперактивацію системи фіброзу на тлі недостатньої активності колагенолітичного ферменту ММП-9, що свідчить про розвиток фіброзу. У пацієнтів з поліпозною формою хронічного риносинуситу коефіцієнт МСР-1/ММП-9 становив 72,97. Отже, дисбаланс між профібротичним та антифібротичним факторами на користь перших характерний як для загострення гнійної форми хронічного риносинуситу, так і для поліпозної форми.

5.2. Морфологічна та імуногістохімічна оцінка інтенсивності процесів фіброзу у пацієнтів з ХПР

Для оцінки стану позаклітинного матриксу синоназального тракту було проведено морфологічне дослідження з фарбуванням поліпозної тканини пікрофуксином за ван Гізона. Також проведена імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до віментину. Віментин - це висококонсервованій протеїн з молекулярною масою 57 кДа, що складається з 466 амінокислотних залишків. Даний білок експресується

лише в нормально функціонуючих мезенхімальних клітинах [150, 225]. Він є компонентом клітинного цитоскелету, що бере участь у забезпеченні цілісності клітин, збереженні структури та рухливості при міграції клітин [225, 267]. Віментин вважається біомаркером епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП), що пов'язано з втратою клітинами епітеліальних маркерів та появою експресії мезенхімальних маркерів [150, 266]. В результаті ЕМП епітеліальні клітини втрачають свою полярність, їх рухливість зростає. Крім того, клітини після ЕМП здатні протистояти апоптозу та виділяти компоненти позаклітинного матриксу. Коли клітини підлягають ЕМП, вони припиняють експресувати кілька епітеліальних маркерів, зокрема Е-кадгерин і цитокератин. Однак такі клітини отримують здатність експресувати віментин, фібронектин, матричні металопротеїнази [266].

Найважливішим фактором, що стимулює синтез віментину і, відповідно, ЕМП є гіпоксія [150]. Відомо, що експресія віментину регулюється фактором-1 (HIF-1), що індукується гіпоксією [129, 133]. Крім того, ЕМП викликається деякими транскрипційними факторами, включаючи Snail1, Slug та ZEB1, а також декількома регуляторними молекулами мікроРНК [269].

Відомо, що ЕМП тісно пов'язаний з запаленням і утворенням пухлин. Існують суттєві докази того, що запальні процеси різного походження супроводжуються інтенсивним ЕМП, а отже, гіперекспресією віментину [107, 150, 159]. Особливості ЕМП у слизовій оболонці синопназального тракту при хронічних риносинуситах вивчені недостатньо, що обумовило інтерес до вивчення особливостей експресії віментину.

У ході дослідження встановлено, що слизова оболонка носової порожнини у контрольній групі представлена багат шаровим епітелієм та його власною пластинкою (рис. 5.1А, рис. 5.1В), що розділені товстими базальними мембранами. Контур з'єднання епітелію з власною пластинкою трохи вигнутий, тобто акантотичні епітеліальні проєкції візуалізуються як широкі та мілкі. Слизова оболонка власної пластинки містить велику

кількість як кровоносних, так і лімфатичних мікроциркуляторних судин. Лімфоцити та макрофаги переважають у незначному лейкоцитарному інфільтраті.

Епітеліальний шар поліпів носа у пацієнтів з ХПР має виражені ознаки атрофії. Епітеліальні клітини покривають деінде базальну мембрану в один або два шари, а базальна мембрана або не спостерігається, або навпаки, вона замінюється товстим шаром інтерстиціального колагену (рис. 5.2). В інших областях епітеліальний шар слизової оболонки товще. Він складається з численних епітеліоцитів, а епітеліальні сосочки можуть виявлятися на поверхні епітелію, що свідчить про збільшення росту епітеліальних клітин, швидше за все, через вплив факторів росту. Власна пластинка рясно заповнена лейкоцитами. Серед них багато нейтрофілів (рис. 5.1С).

У цьому дослідженні вдалось виявити, що шар епітелію, який покриває поліп, характеризується різними морфофункціональними станами, як гіперпластичним, так і атрофічним. Атрофія супроводжувалася появою товстого проміжного шару колагену між епітелієм та власною пластиною слизової оболонки. Лімфоцити та макрофаги переважають у власній пластинці. Видно, що на мікропрепараті, який окрашений пікрофуксином по Ван Гізон, процес епітеліальної атрофії відбувається одночасно з накопиченням колагену вздовж стромі поліпа, тобто колагенових волокон мало, коли епітелій є гіперпластичним, тоді як при атрофії щільність колагенових волокон у стромі поліпа різко зростає (рис. 5.2).

Експресія віментину майже не спостерігається в назальних епітеліальних клітинах у контролю (рис. 5.1А, рис. 5.1В). Проте віментин був помітно виражений у носовому епітелії хворих на ХПР (рис. 5.1D).

Віментин-позитивні клітини були виявлені у власній пластинці назальних тканин в обох групах. У контрольній групі віментин експресується слабо у власній пластинці (рис. 5.1D). На відміну від

контрольної групи, віментин достатньо представлений у стромальній тканині у пацієнтів з ХПР (рис. 5.1D).

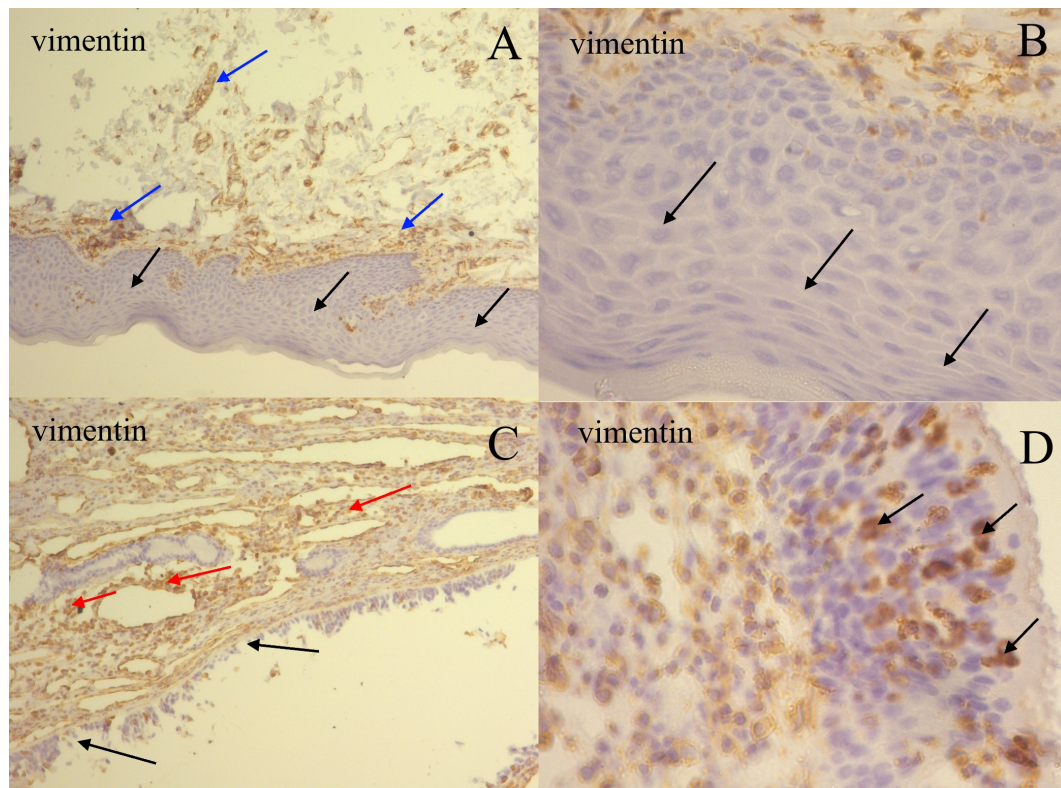


Рис 5.1. Імуногістохімічна реакція на віментин.

А) Слизова оболонка синопозального тракту представника контрольної групи. Експресія віментину практично не спостерігається в епітелії (позначено чорними стрілками). Декілька віментин-позитивних клітин добре видно у власній пластинці (позначені синіми стрілками). Імуногістохімічна реакція з антитілами до віментину. Зб. 100.

В) Слизова оболонка синопозального тракту представника контрольної групи. У клітинах назального епітелію відсутні ознаки експресії віментину. Віментин-негативні назальні епітеліальні клітини позначені чорними стрілками. Імуногістохімічна реакція з антитілами до віментину. Зб. 400.

С) Слизова оболонка синопозального тракту пацієнта з ХПР. Відзначається атрофія носового епітелію (позначена чорними стрілками). Виявлено

атрофія носового епітелію (позначена чорними стрілками). Виявлено

надмірну експресію віментину у власній пластинці (позначена червоними стрілками). Імуногістохімічна реакція з антитілами до віментину Зб. 100.

D) Слизова оболонка синопназального тракту пацієнта з ХПР. Експресія віментину спостерігається в клітинах епітеліального шару, що вказує на епітеліально-мезенхімальний перехід (позначений чорними стрілками). Імуногістохімічна реакція з антитілами до віментину. Зб. 400

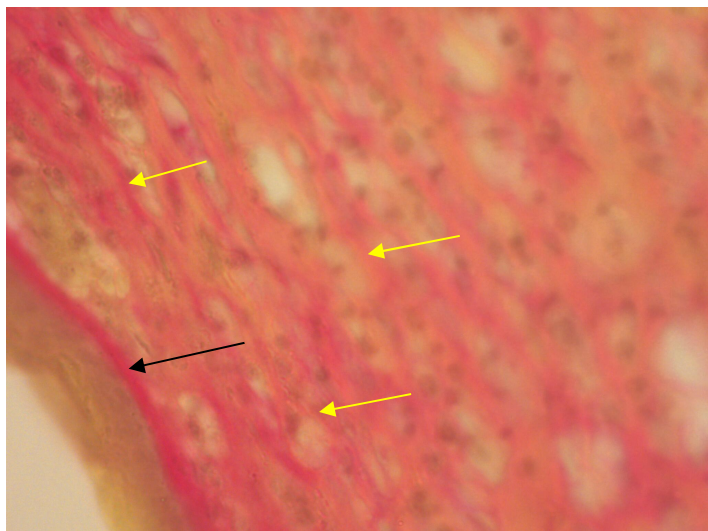


Рис 5.2. Слизова оболонка синопназального тракту пацієнта з ХПР. Базальна мембрана потовщена, а колаген IV типу замінюється інтерстиціальними колагеновими волокнами (позначені чорною стрілкою). Багато колагену зустрічається у власній пластинці (позначені жовтими стрілками). Забарвлення пікрофуксином по ван Гізон. Зб. 100.

Отримані результати дозволяють припустити, що ХПР супроводжується ЕМП у назальному епітелії, про що свідчить підвищення експресії віментину в назальних епітеліальних клітинах.

Збільшення кількості колагенових волокон та надмірна експресія віментину у власній пластинці слизової оболонки синопназального тракту можна пояснити ремоделюванням позаклітинного матриксу, що індукується запаленням, з переважанням факторів, що стимулюють фіброз, над тими, що інгібують фіброз. Підвищення МСР-1 у сироватці крові у пацієнтів з

ХПР (див. розділ 4.1) може сприяти надлишковому синтезу колагенових волокон у позаклітинному матриксі. Проте матричні металопротеїнази, що беруть участь у деградації позаклітинної матриксу через їх колагеназну активність, володіють антифібротичними властивостями та врівноважують надлишок профібротичних факторів, зокрема МСР-1 [123]. Беручи до уваги значно вище співвідношення МСР-1/ММП-9 у пацієнтів з ХПР у порівнянні з контрольною групою, можна припустити, що активація ММП-9 недостатня для протидії зростання профібротичного МСР-1, що призводить до накопичення колагенових волокон. Крім здатності безпосередньо збільшувати синтез колагену, МСР-1 стимулює ЕМП у різних тканинах [169, 170]. Проте немає даних про вплив МСР-1 на ЕМП у епітелії носа при хронічному риносинуситі. Можливо, МСР-1 може бути залучений у розвиток ЕМП у епітелії поліпів носа у пацієнтів з ХПР. Однак цю гіпотезу потрібно перевірити.

Під час розвитку поліпозу носа спостерігається фаза проліферації з наступною атрофією, що підтверджується епітеліальною гіперплазією та менш очевидним стромальним склерозом, на початку утворення поліпів. Пізніше виявляється епітеліальна атрофія на тлі прогресуючого склерозу. Імуногістохімічне фарбування з антитілами до віментину, яке використовується для виявлення мезенхімальних клітин, дозволило виявити наявність віментин-позитивних клітин у гіперпластичному епітеліальному шарі. Кількість віментин-позитивних клітин також вища і у стромі. Дисбаланс між профібротичним МСР-1 і антифібротичним ферментом ММП-9 підтверджує інтенсифікацію стромального склерозу, що підтверджується морфологічними дослідженнями.

5.3. Морфологічна та імуногістохімічна оцінка інтенсивності процесів фіброзу у пацієнтів з ХГР у стадії загострення

Дослідження показало, що позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами до віментину, в першу чергу, локалізується у власній пластинці слизової оболонки синопозального тракту у здорових людей контрольної групи. У епітеліальному шарі практично не виявлено ніяких віментин-позитивних клітин (рис. 5.3).

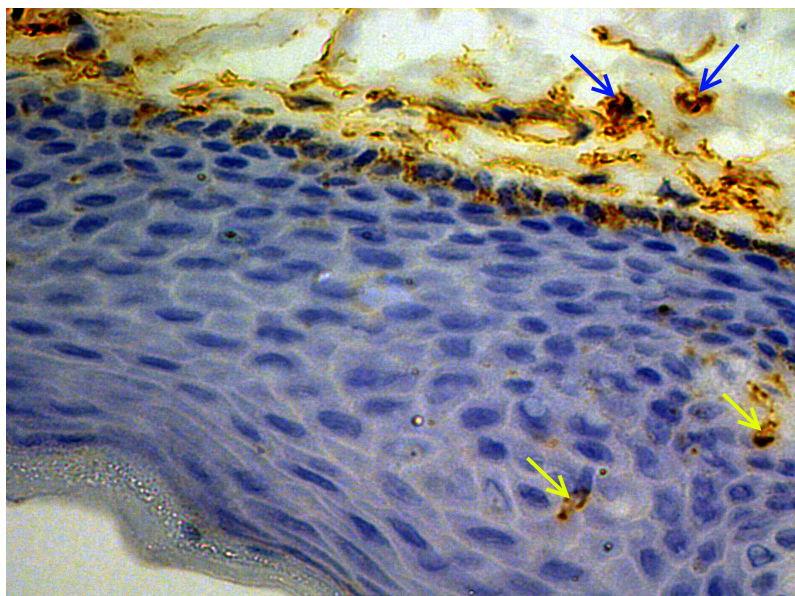


Рис 5.3. Слизова оболонка носа здорової людини (контрольна група). Епітеліальний шар добре видно. Кількість віментин-позитивних клітин в епітелії надзвичайно низька (позначені жовтими стрілками). Деякі слабо віментин-позитивні фіброцити спостерігаються у власній пластинці (позначені синіми стрілками). Імуногістохімічна реакція з антитілами до віментину. Зб. 400.

Аналіз зразків показав, що кількість клітин, що експресують віментин, у lamina propria була вищою у пацієнтів з ХГР у стадії загострення у порівнянні з контрольними зразками. Проте інтенсивність експресії віментину була слабкою. У ділянках, де інфільтрат був менш вираженим, інтенсивність експресії віментину була значно вищою. Аналіз слизової оболонки синопозального тракту, забарвлених за ван Гізон,

підтвердив гіпотезу про розвиток вторинної деструкції колагену в ділянках із клітинним інфільтратом.

Епітелій слизової оболонки синопназального тракту, що отриманий у хворих з загостренням ХГР, містив деякі мезенхімоподібні клітини, що експресують віментин та може вказувати на ЕМП з урахуванням відсутності експресії віментину у нормальних епітеліальних клітинах (рис. 5.4А, 5.4С).

Різниця між експресією віментину в епітеліальному шарі слизових оболонок носа здорових людей та пацієнтів з ХГР у стадії загострення показала, що деякі назальні епітеліальні клітини мають ЕМП-асоційовані ознаки. Можна припустити, що цей ЕМП-подібний процес в назальному епітелії, що супроводжує розвиток ХГР, відіграє важливу роль у його патогенезі.

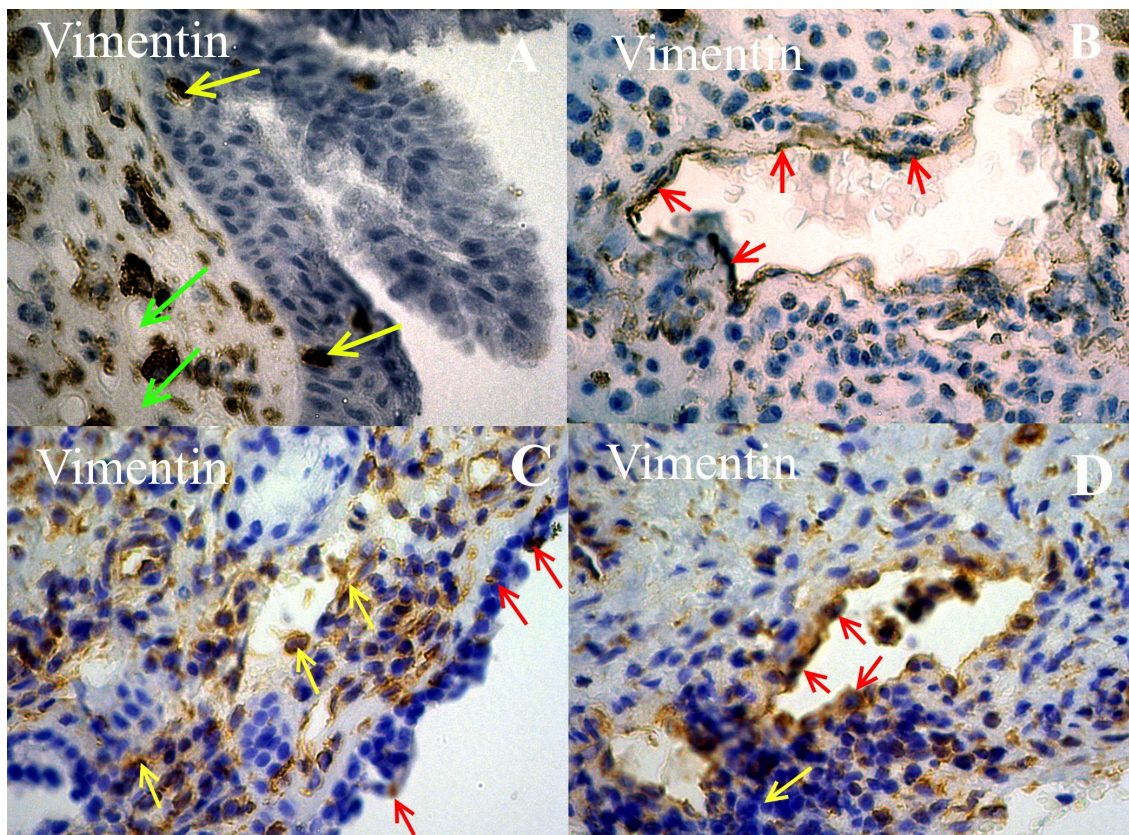


Рис 5.4. А) Слизова оболонка синопназального тракту пацієнта з ХГР без ознак нейтрофільного запалення з вираженим склерозом власної пластинки

(позначено зеленими стрілками). Деякі віментин-позитивні клітини спостерігаються в епітеліальному шарі (позначені жовтими стрілками). Імуногістохімічне забарвлення з антитілами до віментину. Зб. 400.

В) Невелика вена у зразку слизової оболонки синопазального тракту пацієнта з ХГР. Зовнішній шар судинної стінки утворюється численними віментин-позитивними періцитами (позначено червоними стрілками). Імуногістохімічне забарвлення з антитілами до віментину. Зб. 400.

С) Слизова оболонка синопазального тракту пацієнта з ХГР. Клітини, що експресують віментин, виявляються в атрофічному епітеліальному шарі (позначені червоними стрілками). Інтенсивна експресія віментину спостерігається в lamina propria (позначена жовтими стрілками). Імуногістохімічне забарвлення з антитілами до віментину. Зб. 400.

Д) Фрагмент слизової оболонки синопазального тракту хворого на ХГР. Зовнішній шар судинної стінки (марковано червоними стрілками) багатий на періцити, що експресують віментин. Визначається інфільтрат лейкоцитів (позначені жовтими стрілками). Імуногістохімічне забарвлення з антитілами до віментину. Зб. 400.

Підвищений вміст ММП-9 може обумовити зміни, що спостерігаються у хворих при морфологічному та імуногістохімічному дослідженні.

ММП-9-залежний протеоліз може сприяти деструкції базальної мембрани в деяких регіонах слизової оболонки носа у пацієнтів з ХГР у стадії загострення, оскільки базальна мембрана в основному утворюється з колагену IV типу, який, як відомо, є субстратом для ММП-9. Отримані результати узгоджуються з іншими дослідженнями, які підтверджують роль ММП-9 при деградації компонентів базальної мембрани слизової оболонки носа при ХГР [134].

Відомо, що ММП-9 бере участь в індукції ЕМП [164, 220]. Lin CY et al. показали, що ММП-9 здатний викликати ЕМП за участю фактора

транскрипції Snail [164]. Крім того, Bai X et al показали, що лікування рекомбінантною ММП-9 збільшує швидкість ЕМП у клітинах плоскоклітинної карциноми стравоходу [220]. Таким чином, збільшення кількості мезенхімальних клітин, що експресують віментин були виявлені в епітелії синопазального тракту хворих на ХГР, що можна вважати індукцією ЕМП, частково може бути пов'язані з надмірною активацією ММП-9.

При порівняльному аналізі експресії віментину у тканинах синопазального тракту хворих на ХГР у стадії загострення та ХПР встановлено, що більш інтенсивна експресія віментину як у стромі, так у шарі назального епітелію спостерігається при поліпозній формі. Дослідження показали, що кількість віментин-позитивних клітин у назальному епітелії значно вище при поліпозній формі захворювання у порівнянні з гнійною. Це свідчить про більш вираженішу активність процесу ЕМП у хворих з поліпозною формою хронічного риносинуситу. Таким чином, роль ЕМП в патогенезі ХПР більш значуща у порівнянні з ХГР. Можливо, що ЕМП грає більш важливу роль й у розвитку процесу фіброзу у позаклітинному матриксу саме при поліпозній формі, зважаючи на здатність мезенхімально трансформованих віментин-позитивних клітин синтезувати компоненти сполучної тканини, зокрема колаген. Характер змін експресії віментину у стромі схожий з особливостями його експресії у шарі назального епітелію при ХПР та ХГР. Кількість віментин-мічених клітин у власній пластині слизової оболонки поліпозно зміненої тканини вище, ніж у стромі назальної тканини при ХГР. Підвищений вміст клітин мезенхімального походження у lamina propria також вносить вклад у інтенсифікацію процесів фіброзу при ХПР й обумовлює більш високе числове значення співвідношення МСР-1/ММП-9 у хворих на ХПР у порівнянні з ХГР

Висновки до розділу 5:

1. У ході дослідження виявлено, що розвиток ХПР та ХГР призводить до збільшення вмісту антифібротичного протеолітичного ферменту ММП-9 у сироватці крові у порівнянні з контрольною групою, що свідчить на залученість даного ферменту у ремоделювання позаклітинного матриксу при зазначеній патології. Підвищення вмісту ММП-9 у сироватці крові відбувається на фоні достовірного збільшення профібротичного фактору МСР-1.
2. Встановлено, що дисбаланс між профібротичними та антифібротичними факторами на користь перших характерний як для ХГР, так і ХПР. Обидві форми характеризуються підвищенням вмісту ММП-9 у сироватці крові у 2,4 та 1,5 рази відповідно ($p < 0,001$ та $p < 0,05$) та збільшенням коефіцієнту МСР-1/ММП-9 у 3,7 та 4,7 рази відповідно.
3. Порівняльний аналіз експресії віментину у тканинах синоназального тракту хворих на ХГР у стадії загострення та ХПР продемонстрував, що більш інтенсивна експресія віментину як у стромі, так у шарі епітелію носа спостерігається при поліпозній формі. Гіперекспресія віментину у епітеліальних клітинах порожнини носа свідчить про активацію ЕМП, який грає важливу роль в патогенезі захворювання.

Основні наукові результати розділу висвітлені в наступних публікаціях [16, 17, 18, 19, 24, 27, 29; 189, 191].

РОЗДІЛ 6

ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДІВ КЛІТИННОЇ СМЕРТІ ЛЕЙКОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ РИНОСИНУСИТИ ЗА ДОПОМОГОЮ ПРОТОЧНОЇ ЦИТОМЕТРІЇ

Проточна цитометрія - це передовий метод, який дозволяє оцінити фізичні характеристики одиночних клітин у суспензії [120]. Варто зазначити, що цей метод характеризується численними перевагами, включаючи точні та автоматичні вимірювання. Крім того, технологія проведення дослідження вимагає невеликих зразків біоматеріалів і не займає багато часу [203]. Використання проточної цитометрії з флуорохром-міченими барвниками широко використовується для імунофенотипування лейкоцитів, аналізу цитокінів та оцінки апоптозу [120].

Проточна цитометрія дає кілька можливостей для виявлення ступеню апоптозу, що є запрограмованою смертю клітин. Оскільки апоптоз супроводжується структурними змінами, що полегшують фагоцитоз клітин, померлих від апоптозу, для їх усунення, такі специфічні зміни можуть бути використані в якості маркерів апоптозу [86]. Наприклад, цитометричні методи дозволяють виявити зморщення клітин, конденсацію ядра та цитоплазми за рахунок лазерного розсіювання світла [271]. Однак такі зміни не є надійними і можуть спостерігатися, коли клітини руйнуються механічно, і т. п. Таким чином, визначення таких структурних особливостей можна вважати додатковим критерієм.

Іншим маркером апоптозу є зниження мітохондріального трансмембранного потенціалу. У цьому випадку катіонні ліпофільні зонди використовують при виконанні проточної цитометрії [52, 91, 177]. Такі барвники здатні проникати всередину клітин, та їх накопичення в мітохондріях обернено пропорційно трансмембранному потенціалу.

Найбільш поширеними зондами, що використовуються для вимірювання мітохондріального трансмембранного потенціалу, і, отже, для оцінки швидкості загибелі клітин є тетраметилпродамінметил (TMPM), родамін 123 і 5,5',6,6'-тетрахлор-1,1',3,3'-тетраетилбензімідазолкарбоціанін (JC-1) [91, 177].

Проточна цитометрія забезпечує умови для виявлення активності каспаз - протеаз, що безпосередньо залучені до апоптозу. Відомо, що існує дві можливості для визначення швидкості апоптозу на основі вимірювання наявності каспаз. Перший вимагає флуорохром-мічених інгібіторів каспаз (FLICA), які демонструють спорідненість до активних ділянок ферментів. Вони повинні бути марковані молекулою флуорохрому, яка забезпечує флуоресценцію при утворенні комплексу FLICA-каспаза [52]. Що стосується іншого варіанту, він ґрунтується на здатності каспаз розщеплювати фермент репарації ДНК - полі(АДФ-рибоза)полімеразу (ПАРП). Розщеплення ПАРП каталізується каспазою-3 і каспазою-7 з утворенням двох фрагментів, молекулярні маси яких дорівнюють відповідно 89 кДа та 27 кДа. Перші можуть бути використані для визначення апоптичних клітин за допомогою проточної цитометрії [52].

Цитометричні методи широко використовуються для виявлення ядерних маркерів апоптозу. Відомо, що апоптоз зв'язаний з фрагментацією ДНК. За допомогою спеціальних ДНК-специфічних флуорохромів та проточної цитометрії можна виявити клітини з фрагментованою ДНК [271].

Іншою ознакою апоптозу, яку можна виявити за допомогою проточної цитометрії, є екстерналізація фосфатидилсерину [201]. Цей фосфоліпід розташований у внутрішньому шарі ліпідного бішару в життєздатних клітинах. Його транслокація до зовнішнього шару вважається ознакою раннього апоптозу. Фізіологічне значення екстерналізації фосфатидилсерину полягає в залученні макрофагів з метою фагоцитозу апоптичних клітин. Молекули фосфатидилсерину, що розташовані на поверхні клітин (у зовнішньому шарі мембрани), можуть зв'язуватися з

флуорохром-міченим анексином V. Таким чином, флуоресценція, що реєструється проточним цитометром, відображає кількість фосфатидилсерину у зовнішньому шарі мембрани.

Апоптоз також пов'язаний з підвищеною проникністю клітинних плазматичних мембран. Однак проникність мембрани збільшується на пізній стадії апоптозу або у випадку некротичних неживих клітин. Коли це трапляється, такі барвники, як 7-аміноактиноміцин (7-AAD) та пропідій йодид, можуть проникати через мембрану і детектуватись всередині клітин [119]. Тому використання анексину V та одного з зазначених вище катіонних барвників можна використовувати для розмежування життєздатних, ранньоапоптичних та пізньоапоптичних / вторинно некротичних клітин за допомогою проточної цитометрії [182]. Цей принцип дозволив виявити види клітинної смерті на основі методу проточної цитометрії.

У даний час мало що відомо про апоптоз лейкоцитів периферичної крові при хронічному риносинуситі, що і обумовило актуальність визначення особливостей клітинної смерті цих клітин у хворих на ХГР та ХПР.

6.1. Дослідження видів клітинної смерті лейкоцитів у хворих на хронічний гнійний риносинусит у стадії загострення

Проточна цитометрія з використанням ФІТЦ-міченого анексину V (Annexin V FITC), фікоеритрин-мічених мишиних моноклональних антитіл до CD45 (CD45 PE) та 7-AAD виявила суттєві зміни в інтенсивності та режимах клітинної смерті серед ядровмісних клітин периферичної крові у пацієнтів з ХГР порівняно зі здоровими людьми з контрольної групи. Виявлено, що захворювання супроводжувалось статистично значущим

($p < 0,0001$) зниженням кількості життєздатних ядерних клітин при загостренні ХГР порівняно з контрольною групою (табл. 6.1., рис. 6.1., рис. 6.2). Аналіз результатів показав, що відсоток ранніх апоптичних, пізніх апоптичних/некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів у периферичній крові був у 3,7 рази вищим у пацієнтів з ХГР у порівнянні з здоровими особами. Таким чином, ми можемо зробити висновок, що швидкість смерті лейкоцитів у хворих на ХГР вище, ніж у контрольній групі (табл. 6.1).

Таблиця 6.1

Процент життєздатних, ранньоапоптичних, пізньоапоптичних/некротичних та мертвих некротичних ядровмісних клітин периферійної крові при ХГР у стадії загострення (Ме [25-ий перцентіль; 75-ий перцентіль])

Групи	Анексин V- негативні, 7-AAD- негативні клітини (життєздатні), %	Анексин V- позитивні, 7-AAD- негативні клітини (ранньо- апоптичні) %	Анексин V- позитивні, 7-AAD- позитивні клітини (пізньо- апоптичні/ некротичні), %	Анексин V- негативні, 7-AAD- позитивні клітини (мертві некротичні клітини), %
Контрольна група (n=10)	95,93 [95,13; 96,89]	2,06 [1,65; 2,78]	1,00 [0,65; 1,42]	0,89 [0,72; 1,08]
ХГР (n=12)	85,24 [82,53; 86,85] $p < 0,0001$	11,40 [9,89; 14,02] $p < 0,0001$	2,34 [2,07; 3,08] $p < 0,001$	0,86 [0,75; 1,11] $p > 0,05$

Примітка. p – це значення достовірності у порівнянні з контролем

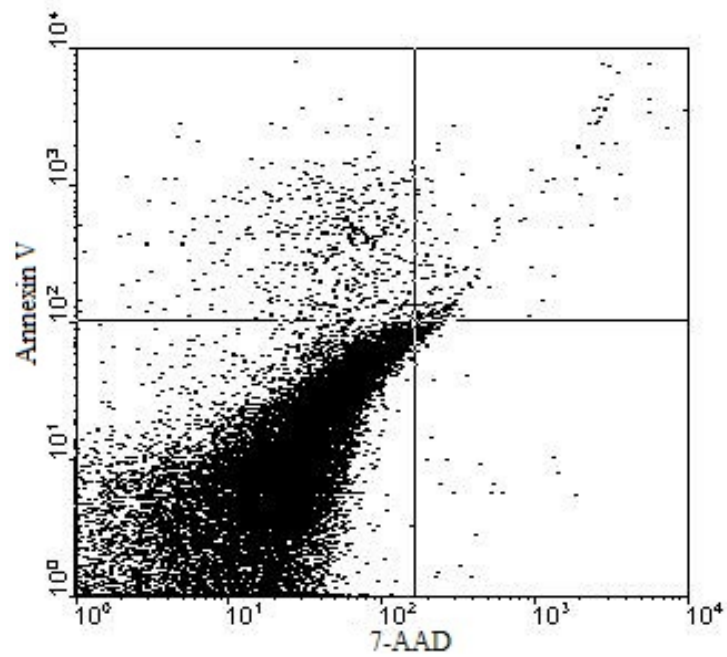


Рис. 6.1. Типова цитограма з візуалізацією життєздатних, ранньоапоптичних, пізньоапоптичних/некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів периферичної крові представника контрольної групи.

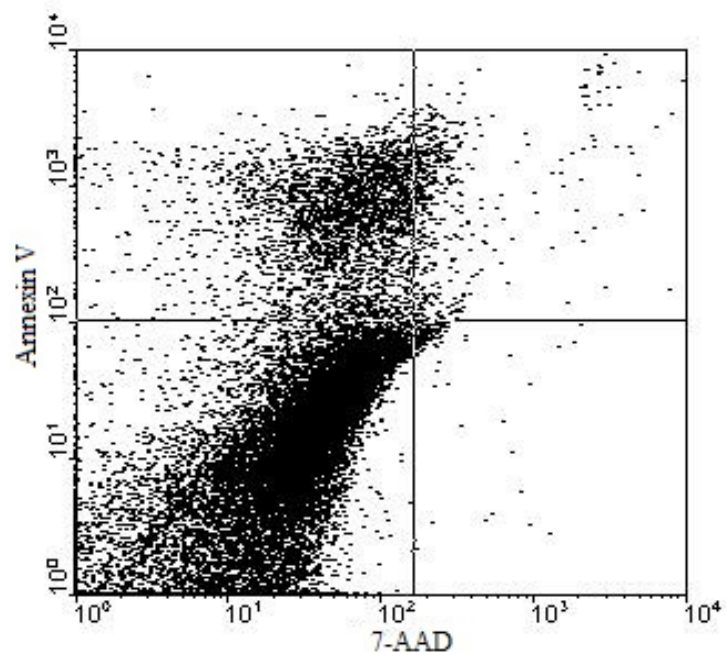


Рис. 6.2. Типова цитограма з візуалізацією, ранньоапоптичних, пізньоапоптичних/некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів

периферичної крові у хворого на ХГР. Значно підвищений вміст ранньоапоптичних клітин.

Аналіз видів клітинної смерті показав значні відмінності між двома групами. Цікаво відзначити, що найбільш помітні зміни спостерігаються для анексин V-позитивних 7 ААД-негативних клітин, тобто для периферичних лейкоцитів, які знаходяться на ранній стадії апоптозу. Загострення ХГР характеризується 5,5-кратним підвищенням кількості ранньоапоптичних ядровмісних клітин периферичної крові у порівнянні з контрольною групою (табл. 6.1). Відсоток анексин V-позитивних 7ААД-позитивних клітин також був удвічі вищим при ХГР у стадії загострення у порівнянні зі здоровими людьми, що свідчить про збільшення кількості пізноапоптичних/некротичних лейкоцитів у пацієнтів з ХГР (табл. 6. 1). Варто відзначити, що статистично значущих змін у кількості анексин V-негативних 7-ААД-позитивних клітин (мертвих некротичних клітин) між двома групами не було визначено (табл. 6.1).

Смерть клітин має надзвичайне важливе значення для регулювання гомеостазу в багатоклітинних організмах. Відомо, що існує декілька способів загибелі клітин, зокрема апоптоз, некроз, нещодавно виявлені піроптоз і некроптоз [53, 184, 227]. Некроз і апоптоз, мабуть, є основними і найбільш характерними видами загибелі клітин. Обидва вищезгадані способи клітинної смерті, згадані вище, часто протиставляються один одному через їх різну роль у регулюванні патологічних процесів. Наприклад, смерть клітин шляхом некрозу провокує запалення і сприяє посиленню запальної реакції, тоді як апоптоз не пов'язаний з розривом мембрани та вивільненням вмісту клітини. Таким чином, апоптоз не викликає запальної реакції [85, 270].

Вживання і смерть лейкоцитів, баланс між якими залежить від комбінації різноманітних проапоптичних і антиапоптичних стимулів з мікросередовища клітин, важливих для регуляції запалення, оскільки

інтенсивність якого підтримується рівновагою між рекрутуванням та елімінацією нових імунних клітин [104]. Таким чином, апоптоз необхідний для видалення імунокомпетентних клітин, їх функціонального «відключення» та завершення запального процесу [104].

Підвищена швидкість апоптозу клітин ядровмісних клітин периферичної крові, що спостерігається у хворих на ХГР у стадії загострення, можливо спрямована на запобігання пошкодженню тканин та сприяє завершенню запального процесу.

Збільшення відсотка анексин V + 7AAD - клітин у хворих з ХГР може бути пов'язано з екстерналізацією фосфатидилсерину, що є ознакою раннього апоптозу. Така втрата асиметрії фосфатидилсерину у плазматичній мембрані є ознакою апоптозу і може розвиватися внаслідок дії декількох факторів. У нормальних умовах фосфоліпідна асиметрія підтримується завдяки дії амінофосфоліпідної транслокази (АФТ) та АТФ-залежної скрамблази. Транслокація фосфатидилсерину з внутрішнього шару клітинної мембрани до зовнішнього вимагає інгібування першого ферменту і активації останнього [195].

Цікаво відзначити, що апоптоз зв'язаний з селективним окисленням фосфатидилсерину. При апоптозі окислення фосфатидилсерину відбувається перед його екстерналізацією. Таким чином, окислений фосфатидилсерин не може бути розпізнаний АФТ, через це фермент не здатен перенести його назад до внутрішнього шару мембрани [195, 209].

Виявлене у даному дослідженні значне підвищення рівня 8-ізопростану, що є продуктом вільнорадикального окиснення арахідонової кислоти, а отже, маркером окисного стресу [229], у сироватці крові хворих на ХГР разом з підвищенням сироваткового рівня ТБК-активних продуктів та ДК (див. розділ 3) на фоні зниження загальної антиоксидантної активності сироватки крові дозволяє зробити висновок, що захворювання супроводжується розвитком оксидативного стресу.

Наші результати узгоджуються з численними дослідженнями, що підтверджують гіперпродукцію активних форм кисню (АФК) та розвиток окисного стресу при хронічному риносинуситі [79, 211, 245]. Можливо, екстерналізація фосфатидилсерину може частково бути пов'язана з прямим впливом АФК на молекули фосфатидилсерину, а окисно-модифіковані молекули даного фосфоліпиду не можуть бути транслоковані до внутрішнього шару мембрани, що викликає зв'язування анексину V. Крім прямого впливу на фосфоліпідний бішар клітинних мембран, окисдаивний стрес може індукувати апоптоз залежними від мітохондрій та немітохондріальними шляхами [197]. Перший варіант супроводжується виходом цитохрома с з мітохондрій. Вважається, що цитохром с сприяє окисленню та транслокації фосфатидилсерину до зовнішнього шару клітинних мембран [133, 171]. Вплив цитохрому с на екстерналізацію фосфатидилсерину та подальший апоптоз може бути пояснено його здатністю каталізувати окислення фосфатидилсерину через його пероксидазну активність [54, 171]. Таким чином, високий відсоток ранньоапоптичних ядерних клітин периферичної крові у пацієнтів з ХГР у стадії загострення у порівнянні з контрольною групою може бути пов'язаний з окисдаивний стресом, який сприяє активації апоптозу кількома способами.

Дане дослідження також показало, що загострення ХГР супроводжувалося збільшенням відсотка пізньоапоптичних/некротичних ядровмісних клітин крові. Однак кількість таких клітин була набагато меншою порівняно з лейкоцитами, які знаходились на ранній стадії апоптозу. Ранньоапоптичні клітини можуть стати пізньоапоптичними або некротичними, коли їх плазматична мембрана втрачає свою цілісність і стає проникною, що можна детектувати за флуоресценцією 7-AAD. Цей барвник має сильну спорідненість до дволанцюгової ДНК та інтеркалює в ділянки, що багаті на гуанін та цитозин [275]. Доступ до ДНК забезпечується лише тоді, коли мембрани не є незмінними, а їх проникність збільшується, що

вказує на пізній апоптоз або некроз. Результати дозволяють припустити, що досить низька кількість пізньоапоптичних/некротичних лейкоцитів на фоні досить високого відсотка ранньоапоптичних клітин може бути пов'язана зі збереженням клітин у крові через переваження вмираючими клітинами та їх менш ефективним поглинанням фагоцитарними клітинами. Таким чином, ранньоапоптичні лейкоцити частково зазнають вторинного некрозу у пацієнтів з ХГР. Однак відсоток ядровмісних клітин периферичної крові, що загинули шляхом вторинного апоптозу, не є високим у хворих, що страждають на ХГР у стадії загострення, що свідчить про те, що основна частина ранньоапоптичних клітин вилучається фагоцитами. Оскільки є достовірне свідчення того, що вилучення клітин на ранній стадії апоптозу має протизапальні ефекти через збільшення утворення протизапальних цитокінів на фоні зниження продукції прозапальних цитокінів [204], результати проточної цитометрії, що отримано в даному дослідженні, свідчать про значне поглинання ранньоапоптичних клітин фагоцитами для зниження ступені запалення та пошкодження власних тканин.

6.2. Дослідження видів та стадій клітинної смерті лейкоцитів у хворих на хронічний поліпозний риносинусит

При дослідженні особливостей клітинної смерті лейкоцитів у хворих на ХПР методом проточної цитометрії встановлено, що кількість життєздатних анексин V-негативних 7-AAD- негативних клітин статистично достовірно зменшена, що свідчить про активацію загибелі лейкоцитів при зазначеній патології (рис. 6.3, табл. 6.2).

Однак у порівнянні з загостренням гнійної форми хронічного риносинуситу, кількість життєздатних ядровмісних клітин крові вище, що

вказує на менш вираженішу ступінь загибелі лейкоцитів при ХПР у порівнянні з ХГР.

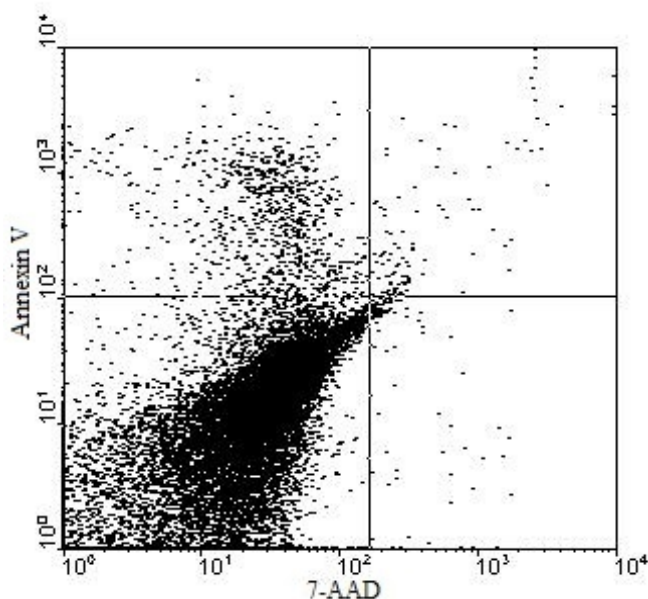


Рис. 6.3. Типова цитограма з візуалізацією життєздатних, ранньоапоптичних, пізньоапоптичних/некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів периферичної крові у хворого на ХПР.

При аналізі видів загибелі лейкоцитів виявлено, що кількість пізньоапоптичних/некротичних анексин V-позитивних 7-AAD- позитивних клітин та мертвих некротичних анексин V-негативних 7-AAD- позитивних лейкоцитів у хворих на ХПР не відрізняється від показників контрольної групи. Однак, достовірні відмінності виявлені для вмісту ранньоапоптичних анексин V-позитивних 7-AAD-негативних лейкоцитів периферичної крові. Так, відсоток ранньоапоптичних лейкоцитів у пацієнтів з ХПР був майже у 2,4 раз вище у порівнянні з контрольною групою (табл. 6.2).

У той же час при порівнянні кількості лейкоцитів, що знаходяться на ранній стадії апоптозу, у хворих на обидві форми хронічного риносинусита, що досліджуються, виявлено, що при ХГР відсоток V-позитивних 7-AAD-негативних ядровмісних клітин периферичної крові вдвічі вище ніж при ХПР.

Таблиця 6.2

Процент життєздатних, ранньоапоптичних, пізньоапоптичних/некротичних та мертвих некротичних ядровмісних клітин периферійної крові у хворих на ХГР (Ме [25-ий перцентиль; 75-ий перцентиль])

Групи	Анексин V-негативні, 7-AAD-негативні клітини (життєздатні) %	Анексин V-позитивні, 7-AAD-негативні клітини (ранньо-апоптичні) %	Анексин V-позитивні, 7-AAD-позитивні клітини (пізньо-апоптичні/некротичні), %	Анексин V-негативні, 7-AAD-позитивні клітини (мертві некротичні клітини), %
Контрольна група, (n=10)	95,93 [95,13; 96,89]	2,06 [1,65; 2,78]	1,00 [0,65; 1,42]	0,89 [0,72; 1,08]
ХГР, (n=11)	93,47 [92,45; 93,90] p<0,001	4,91 [4,58; 5,67] p<0,0001	0,83 [0,69; 0,91] p>0,05	0,65 [0,39; 0,70] p>0,05

Примітка. p – це значення достовірності у порівнянні з контролем

Таким чином, поліпозна форма хронічного риносинуситу характеризується менш вираженою активацією апоптозу лейкоцитів у порівнянні з ХГР. Подібна різниця може бути пояснена у тому числі й менш вираженими порушеннями редокс-гомеостазу при ХГР у порівнянні з загостренням ХГР (див. розділ 3).

Як зазначено вище, у клітин, що знаходяться на ранній стадії апоптозу, відбувається вихід фосфатиділсерину у зовнішній шар фосфоліпідного бішару мембран, що слугує сигналом для макрофагів щодо фагоцитозу цих клітин. Виявлені зміни вмісту анексин V-позитивних 7-AAD-негативних,

анексин V-позитивних 7-AAD-позитивних та анексин V-негативних 7-AAD-позитивних клітин у периферичній крові при ХПР вказують на активацію процесів апоптозу лейкоцитів при ефективному видаленні ранньоапоптичних клітин макрофагами, що підтверджується відсутністю змін відсотків пізньоапоптичних/некротичних та мертвих некротичних клітин.

Таким чином, елімінація ранньонекротичних клітин при ХПР відбувається ефективніше, ніж при ХГР, що може бути обумовленим нижчим відсотком клітин, що зазнали апоптозу. Швидке видалення ранньоапоптичних лейкоцитів направлено на зниження інтенсивності запалення, оскільки елімінація цих клітин перешкоджає їх вторинному некрозу, який може вносити вклад у інтенсифікацію запалення шляхом попередження синтезу прозапальних цитокінів.

Даний механізм також може частково пояснити більші концентрації прозапальних цитокінів ФНП- α та ІЛ-1 β при гнійній формі захворювання у порівнянні з поліпозною. Нижча швидкість елімінації ранньоапоптичних лейкоцитів з фосфатидилсерину у зовнішньому шарі мембрани при загостренні ХГР у порівнянні з ХПР призводить до збільшення вториннонекротичних клітин, що має прозапальний ефект за рахунок синтезу прозапальних цитокінів.

Висновки до розділу 6:

1. Аналіз видів клітинної смерті лейкоцитів периферичної крові методом проточної цитометрії показав, що для загострення ХГР характерне 5,5-кратне підвищення кількості ранньоапоптичних лейкоцитів крові у порівнянні з контрольною групою та двократне підвищення пізньоапоптичних/некротичних клітин.

2. При ХПР відсоток ранньоапоптичних лейкоцитів майже у 2,4 раз вище у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,0001$), що вказує на активацію апоптозу лейкоцитів при ХПР.

Основні наукові результати розділу висвітлені в наступних публікаціях [28].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

У чисельних роботах описується особливості патогенезу хронічного риносинуситу, однак на даному етапі розвитку клінічної біохімії та оториноларингології не існує єдиної теорії патогенезу ХПР та ХГР [90, 153]. Відомо, що захворювання супроводжується інфільтрацією слизової оболонки синопазального тракту еозинофілами, нейтрофілами, лімфоцитами та макрофагами. При цьому цікаво відмітити, що при ХПР спостерігається велика кількість саме еозинофілів, у той час як при ХГР інфільтрат має нейтрофільний характер [149]. Рекрутування активованих лейкоцитарних клітин призводить до секреції ними прозапальних цитокінів, зокрема ФНП- α та ІЛ-1 β , підвищення яких спостерігалось у даному дослідженні як при ХГР у стадії загострення, так й при ХПР. Вміст вищезазначених прозапальних цитокінів вище при ХГР у порівнянні з ХПР (розділ № 4). Дані цитокіни відіграють ключову роль у регуляції запалення при хронічних риносинуситах. Ця гіпотеза узгоджується з даними інших досліджень [98, 194]. Активація імуннокомпетентних клітин та дія прозапальних цитокінів ФНП- α та ІЛ-1 β призводить до генерації АФК та активних форм нітрогену, що призводить до пошкодження внутрішньоклітинних макромолекул, зокрема ДНК, білків та ліпідів [112]. Активуються процеси ліпідної пероксидації, спостерігається зниження активності антиоксидантної системи, що призводить до розвитку оксидативного стресу, що підтверджується підвищенням вмісту сироваткових 8-ізопростану, ТБК-активних продуктів, ДК та зниженням рівнів мелатоніну та ЗАА крові (розділ № 3). Ступінь вираженості оксидативного стресу більший при гнійній формі захворювання у порівнянні з поліпозною, що відповідає особливостям змін сироваткової концентрації ФНП- α та ІЛ-1 β .

Генерація АФК та розвиток оксидативного стресу при досліджуваній патології призводить до порушення структури мембран як у зоні ураження (епітелій слизової оболонки носа), так й системно (еритроцити). Зокрема у мембранах еритроцитів спостерігається збільшення ступеня гідратації найбільш полярної області, а саме області полярних голівок фосфоліпідів. Збільшення гідратації області полярних голівок фосфоліпідів мембран спостерігається й у клітинах епітелію слизової оболонки носа (розділ № 3). Подібне пошкодження мембран з порушенням їх цілісності призводить до загибелі клітин, у тому числі й лейкоцитів, гибель яких шляхом некрозу або апоптозу регулює інтенсивність запалення [93].

Аналіз видів клітинної смерті лейкоцитів у даному дослідженні методом проточної цитометрії показав, що більша інтенсивність апоптозу лейкоцитів характерна для ХГР у порівнянні з ХПР. У той же час при ХГР спостерігається підвищення вмісту пізньоапоптичних / некротичних лейкоцитів (розділ № 6). Це підтверджується тим, що оксидативний стрес та прозапальні цитокіни ФНП- α та ІЛ-1 β активують процеси апоптозу [261]. Цей факт може пояснити значну інтенсивність процесів апоптозу лейкоцитів у хворих на ХГР у зв'язку з більш вираженим оксидативним стресом та підвищенням прозапальних цитокінів в крові. Активація апоптозу лейкоцитів при ХГР може носити протизапальний характер і може бути направлена на зниження інтенсивності запалення, оскільки на відміну від некрозу, апоптоз має антизапальний характер [93].

Роль ФНП- α та оксидативного стресу в регуляції інтенсивності запалення при хронічних риносинуситах також полягає в індукції синтезу хемокіну МСР-1 [259], підвищення якого спостерігається як у хворих на ХГР, так й на ХПР (розділ № 4). МСР-1 залучений у рекрутування нових моноцитів з їх перетворенням у макрофаги, що відіграє важливу роль у підтримці інтенсивності запального процесу синоназального тракту. Вклад МСР-1 у активацію моноцитів є більш вагомим при загостренні гнійної форми захворювання. Окрім активації макрофагів, МСР-1 розглядається в

якості профібротичного фактору, оскільки цей хемокін стимулює фібрилогенез колагену [51]. Таким чином, МСР-1 залучений у розвиток фіброзу при ХГР та ХПР у синоназальному тракті, наявність якого у даному дослідженні підтверджували морфологічно (розділ № 5). Також МСР-1 може стимулювати експресію віментину – білку, що експресується лише в нормально функціонуючих мезенхімальних клітинах і є компонентом їх цитоскелету [150, 225]. Встановлено, що при ХГР та ХПР спостерігається гіперекспресія віментину у тканинах синоназального тракту як у стромі, так в епітелії. Найбільш виразна експресія віментину спостерігається при поліпозній формі (розділ № 5). Таким чином, гіперекспресія віментину може бути обумовлена секрецією МСР-1, що синтезується під дією АФК та прозапальних цитокінів. Гіперекспресія віментину у епітеліальних клітинах порожнини носа свідчить про активацію ЕМП, яка грає важливу роль в патогенезі ХПР та ХГР. Беручи до уваги рівень експресії віментину у епітеліальних клітинах порожнини носа можна зробити висновок, що роль ЕМП більш значуща в патогенезі саме поліпозної форми захворювання. ЕМП також вносить вклад у процеси фіброзу, оскільки мезенхімально трансформовані епітеліальні клітини здатні мігрувати до власної пластинки та секретувати компоненти міжклітинного матриксу [110]. Підвищення профібротичної МСР-1 також супроводжується збільшенням вмісту антифібротичного протеолітичного ферменту ММП-9, що спостерігалось у пацієнтів з обома формами хронічного риносинуситу. Подібне збільшення сироваткової ММП-9 може бути обумовлено розвитком оксидативного стресу й дією ФНП- α та ІЛ-1 β , оскільки ці фактори підвищують експресію ММП-9 [139, 165, 214, 239]. Таким чином, активація ММП-9 у сироватці крові хворих на ХПР та ХГР може бути обумовлена синергетичною дією зазначених факторів на експресію ММП-9. Однак незначне підвищення ММП-9 є недостатнім, щоб компенсувати дію профібротичних факторів, про що свідчить значне збільшення коефіцієнту МСР-1 / ММП-9, що призводить до активації фібротичних процесів.

Крім того, роль ММП-9 у патогенезі ХГР та ХПР полягає у здатності розщеплювати колаген IV типу, що є компонентом базальних мембран [134].

Таким чином, зникнення базальних мембран у деяких ділянках слизовою оболонки порожнини носа може бути обумовлена дією ММП-9. Шляхом деструкції базальної мембрани ММП-9 вносить вклад до міграції віментин-експресуючих мезенхімально трансформованих епітеліоцитів до власної пластинки. Крім того, ММП-9 здатна безпосередньо стимулювати ЕМП [164, 220]. Ці фактори обумовлюють важливість ММП-9 у регуляції ремоделювання позаклітинного матриксу при ХПР та ХГР у стадії загострення.

Ключова роль прозапальних цитокінів ФНП- α та ІЛ-1 β й розвитку оксидативного стресу в патогенезі ХГР та ХПР також опосередкується їх здатністю стимулювати експресію хемокіну фракталкіну [257], вміст якого у сироватці крові підвищується при ХГР та ХПР (розділ № 4). Фракталкін стимулює хемотаксис моноцитів, НК-клітин і Т-кілерів [87, 272]. Таким чином, можна припустити залученість ФНП- α та ІЛ-1 β у стимуляцію синтезу фракталкіна при ХПР та ХГР. Отже, гіперпродукція фракталкіна при обох формах хронічного риносинуситу є компонентом комплексу прозапальних ефектів ФНП- α та ІЛ-1 β .

Бактеріальні, вірусні та грибкові антигени стимулюють активацію клітин імунної системи при риносинуситах. Активація лейкоцитів призводить до генерації прозапальних цитокінів ІЛ-12 та ІЛ-8, що залучені у реалізацію імунної відповіді Th₁ – типу [136]. Активація ІЛ-12 та значна гіперпродукція ІЛ-8 при ХГР може розглядатися як активація саме клітинної Th₁ – опосередкованої ланки імунітету. У той же час підвищення ІЛ-12 на фоні зниження ІЛ-8 при ХПР свідчить про менш значну роль клітино-опосередкованої імунної відповіді при поліпозній формі захворювання у порівнянні з гнійною.

Інтенсивність запалення при ХПР та ХГР підтримується також відсутністю підвищення вмісту протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10, рівень яких достовірно не змінювався у сироватці крові хворих (розділ № 4), що призводить до відсутності інгібуючого впливу антизапальних цитокінів на прозапальні. Дисбаланс подібного роду між прозапальними та антизапальними цитокинами активує запалення та гальмує розвиток стадії вирішення запалення.

Отримані у результаті дослідження дані щодо активації процесів ліпідної пероксидації, розвитку оксидативного стресу, пошкодження структури мембран епітеліоцитів порожнини носа та еритроцитів, активації процесів ЕМП у епітелії слизової оболонки носа, збільшення інтенсивності апоптозу лейкоцитів та порушень гормонального, цитокінового та хемокинового спектрів сироватки крові дозволяють розробити схему деяких ланок патогенезу хронічних риносинуситів з метою удосконалення сучасних поглядів на механізми розвитку захворювання та пошуку нових біомаркерів та лікувальних підходів, що можуть бути направлені на одну з ланок патогенезу ХГР чи ХПР, що досліджувалися.

За результатами власних досліджень та даних літератури була створена схема біохімічних механізмів розвитку хронічних риносинуситів (Рис. 7).

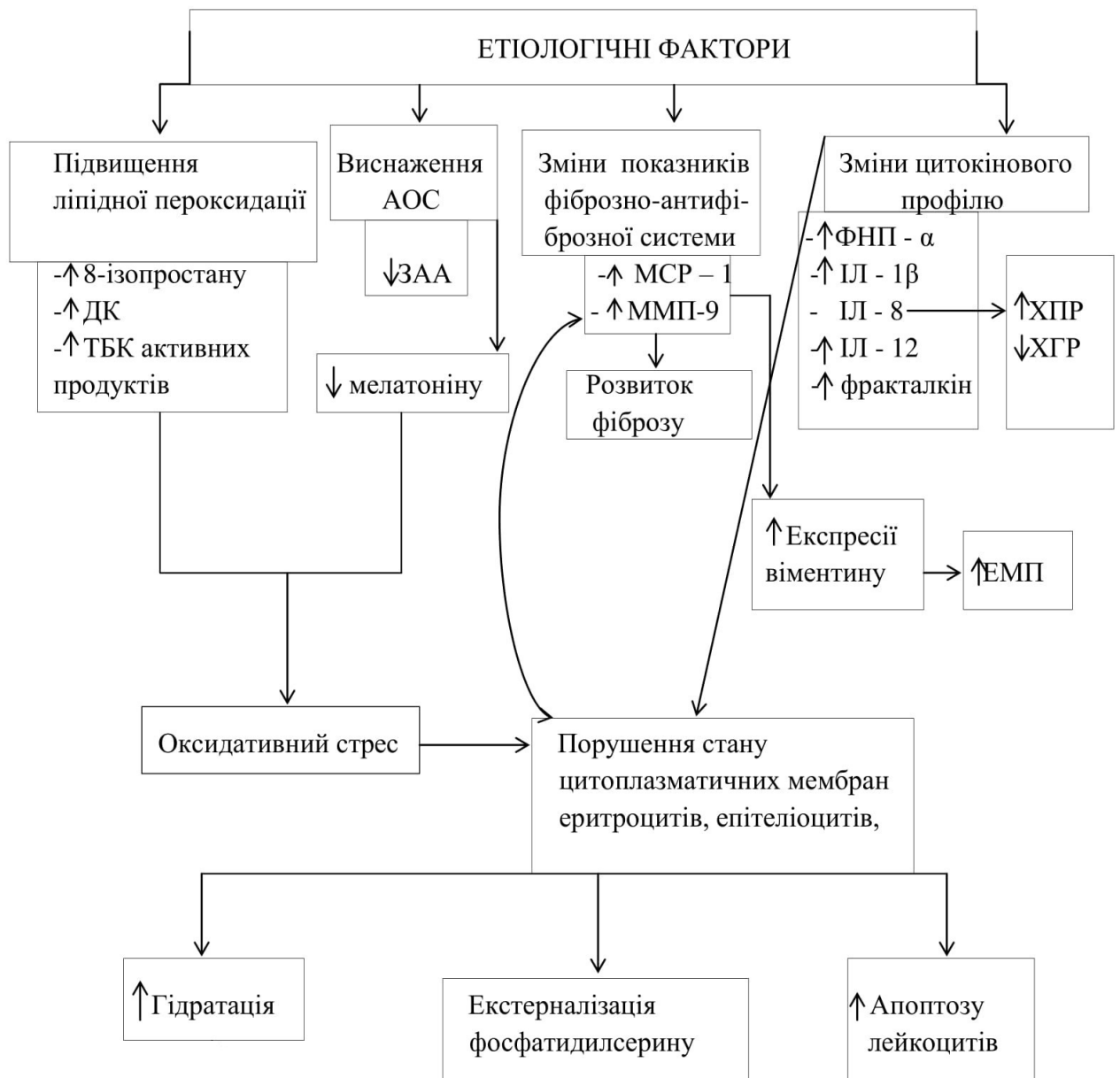


Рис. 7. Схема біохімічних механізмів розвитку хронічних риносинуситів.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та досягнуто вирішення наукового завдання: на основі встановлення біохімічних механізмів розвитку хронічного риносинуситу, а саме ролі оксидативного стресу, фіброзу, імунозапальних порушень, апоптозу та некрозу лейкоцитів в пошкодженні тканин синопазального тракту, ідентифіковані нові маркери для оцінки перебігу захворювання.

1. У хворих на хронічний поліпозний та гнійний риносинусит реєструється розвиток оксидативного стресу: в сироватці крові зростає вміст 8- ізопростану (в 1,8 та 2,2 рази відповідно, $p < 0,001$), ТБК-активних продуктів (в 1,6 та 1,9 рази відповідно, $p < 0,0001$), ДК (в 1,65 та 2,1 рази відповідно, $p < 0,001$) на тлі зниження загальної антиоксидантної активності крові (на 21,2 та 39,4% відповідно, $p < 0,05$) та рівня мелатоніну (в 2,3 та 3,0 рази відповідно, $p < 0,001$), порівняно з контролем.

2. За поліпозної та гнійної форми хронічного риносинуситу спостерігається порушення стану цитоплазматичних мембран клітин – зростає гідратація мембрани епітелію слизової оболонки носа в області гліцеринових залишків фосфоліпідів, карбонільних груп та жирнокислотних ланцюжків фосфоліпідів (доказом є зміни спектру флуоресценції зонда 010) та мембрани еритроцитів в області ацильних залишків фосфоліпідів (доказом є зменшення зв'язування зонда RH7).

3. Хронічний риносинусит супроводжується розвитком імунозапальних порушень: за умов гнійної та поліпозної форми захворювання в сироватці крові зростає вміст прозапальних цитокінів ФНП- α (в 3,6 та 1,9 рази відповідно, $p < 0,001$), ІЛ-1 β (в 2,8 та 2,6 рази відповідно $p < 0,001$), ІЛ-12 (в 2,3 та 2,6 рази, $p < 0,001$), фракталкіну (в 3,4 та 2,6 рази відповідно, $p < 0,001$), порівняно з контролем. Поряд з цим у хворих на ХГР зростає сироватковий

вміст ІЛ-8 в 3,6 рази, $p < 0,05$, а у хворих на ХПР його рівень зменшується у 2,7 рази ($p < 0,05$), порівняно з контрольною групою.

4. В патогенезі хронічних риносинуситів важливу роль відіграє дисбаланс між про- та антифібротичними чинниками: при ХГР та ХПР в сироватці крові зростає вміст МСР-1 (в 8,8 та 6,9 рази відповідно, $p < 0,001$), ММП-9 (в 2,4 та 1,5 рази відповідно, $p < 0,05$) та співвідношення МСР-1/ММП-9 (в 3,7 та 4,7 рази відповідно, $p < 0,001$).

5. У хворих на хронічний риносинусит зростає експресія віментину в тканинах синопазального тракту та активується епітеліально-мезенхімальний перехід. За ХПР експресія віментину є більш виразною у стромі та епітеліальних клітинах, порівняно з такою при ХГР.

6. При хронічному риносинуситі активується апоптоз лейкоцитів, що підтверджується підвищенням кількості ранньоапоптотичних лейкоцитів крові (при ХПР в 2,3 рази, $p < 0,0001$; при ХГР в 5,5 рази, $p < 0,0001$) та пізньоапоптотичних/некротичних клітин (при ХГР у 2,3 рази, $p < 0,001$), порівняно з контрольною групою.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антиоксидантная активность сыворотки крови / Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В. и др. // Вестн. РАМН. 1999. Т. 99, № 2. С. 15–22.
2. Апоптоз энтероцитов при хроническом каррагинан-индуцированном гастроэнтероколите: исследование методом флуоресцентных зондов / Ткаченко А. С., Корниенко Е. М., Посохов Е. А. // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія Біологія. 2016. Вип. 26. С. 179–186.
3. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. 1983. № 3. С.33–35.
4. Гофман В.Р., Бондарук В.В. Новый подход к диагностике латентных синуситов // Российская ринология. 1998. №2. 22 с.
5. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов // М.: Наука. 1989. 277 с.
6. Дорошенко А.О., Посохов Е.А. Реакция фотопереноса протона в ряду ортогидроксипроизводных 2,5-диарил-1,3-оксазола и 2,5-диарил-1,3,4-оксадиазола в полистирольных пленках // Теор и exper химия. 1999. №35(36). С. 357-361.
7. Жуков В.И., Ткаченко А.С. Система перекисного окисления липидов и активность апоптоза при экспериментальном хроническом гастроэнтероколите // Науч. ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. 2013. №18 (161), Вып. 23. С. 138–141.
8. Игнатенко В.А., Лысенкова А.В., Калинин А.Л., Казущик А.Л. ТБК-активные продукты перекисного окисления липидов эритроцитов в УЗ-поле и при наличии этанола // Проблемы здоровья и экологии. 2012. №4 (34). С. 117-122.

9. Клиническая ринология / Пискунов Г.З., Пискунов С.З. // Москва : Мед. информ. аг. 2012. 560 с.
10. Леонтьева Г.М. Цитокины на системном и локальном уровне у беременных с острым риносинуситом // Здоровоохранение Чувашии. 2009. №1. С. 31-36.
11. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия // М.: Мир. 1969. 648 с.
12. Моноцитарний хемоатрактантний протеїн-1 і матриксна металопротеїназа-9 у хворих з кардіоренальним синдромом 2 типу на тлі хронічної серцевої недостатності та цукровим діабетом 2 типу залежно від рівня швидкості клубочкової фільтрації / Кравчун П.Г., Наріжна А.В., Риндіна Н. Г. // Запорожский медицинский журнал. 2014. № 5. С. 24-28.
13. Набатян К.А., Оніщенко А.І., Нечипорук І.А., Ткаченко А.С. Вміст фракталкіна в сироватці крові хворих з загостренням хронічного гнійного риносинуїта // Хист. 2017. Вип. 19. С. 55.
14. Наконечна О.А., Оніщенко А.І., Ткаченко А. С. Діагностичне значення інтерлейкіну-12 при загостренні хронічного гнійного риносинуїту // Актуальні проблеми сучасної біохімії та клінічної біології : матеріали IV Міжнародної наукової конференції, м. Дніпро, 5–6 жовтня, 2017 р. Дніпро. 2017. С. 60–61.
15. Наконечная О. А., Онищенко А. И., Горбач Т. В., Ткаченко А. С., Чубукова Т. Н. Содержание некоторых хемокинов в сыворотке крови пациентов с обострением хронического гнойного риносинусита // Проблемы здоровья и экологии. 2017. №2(52). С.30-33.
16. Наконечная О.А., Онищенко А.И. Содержание интерлейкина-8 и матриксной металлопротеиназы-9 в крови больных с обострением хронического гнойного и полипозного риносинусита // Актуальные проблемы медицины : сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 26-й итоговой научной сессии Гомельского

государственного медицинского университета, Гомель, 3–4 ноября 2016 г., Гомель. 2016. С. 536–539.

17. Онищенко А.И. Окислительный стресс и матриксная металлопротеиназа-9 при обострении хронического гнойного риносинусита // Український журнал медицини, біології та спорту. 2018. Т. 3, № 6(15). С. 129-133.

18. Онищенко А.И. Содержание матриксной металлопротеиназы-9 у больных хроническим полипозным риносинуситом // Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для студентів та молодих вчених) : науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 100-річчю з дня народження І. Г. Герцена. Одеса, 27–28 квітня 2017 р., Одеса. 2017. С. 36.

19. Онищенко А.И. Использование моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1) в качестве диагностического маркера хронического полипозного риносинусита // Актуальные проблемы медицины: сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 27-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета, 2–3 ноября 2017 г., Гомель. 2018. С. 582–583.

20. Онищенко А.И., Калашник Ю.М. Содержание интелейкина-12 в сыворотке крови больных хроническим полипозным риносинуситом // Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии : сборник материалов III Конференции молодых ученых биохимиков и молекулярных биологов с международным участием, 11–12 мая 2017 г., Гродно. 2017. С. 95–96.

21. Онищенко А.И. Содержание CX3CL1 в сыворотке крови больных с хроническим полипозным риносинуситом // Актуальні питання клінічної медицини : матеріали XI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, 27 жовтня 2017 р., Запоріжжя. 2017. С. 50–51.

22. Онищенко А.И. Содержание фракталина и ИЛ-8 у больных хроническим гнойным риносинуитом // Актуальні проблеми сучасної хімії : Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих науковців, 20 – 22 квітня 2017., Миколаїв. 2017. С. 54–55.

23. Онищенко А.И., Наконечная О.А., Ткаченко А.С. Изменения содержания мелатонина и ИЛ-12 в сыворотке крови больных хроническим полипозным риносинуитом // Буковинський медичний вісник. 2017. Т.21. №2. С.75-77.

24. Онищенко А.И., Наконечная О.А., Ткаченко А.С. информативность определения содержания сывороточного моноцитарного хемоатрактантного белка-1 (MCP-1) при хроническом гнойном риносинуите // Вестник КазНМУ. 2017. №4. С.134-136.

25. Онищенко А.И., Наконечная О.А., Ткаченко А.С., Корниенко Е.М., Горбач Т.В., Бондаренко В.А., Посохов Е.А., Дорошенко А.О. Исследование мембран эритроцитов при хроническом полипозном риносинусите методом флуоресцентных зондов // Український журнал медицини, біології та спорту. 2017. Т 3. № 1(10). С. 169-173.

26. Оніщенко А.І. Діагностичне значення вмісту інтерлейкіну-12 у крові хворих на хронічний поліпозний риносинусит // Український журнал медицини, біології та спорту. 2017. № 4(6). С. 98-101.

27. Оніщенко А.І. Активність матриксної металопротеїнази-9 у хворих з загостренням хронічного гнійного риносинуїта // Актуальні проблеми клінічної та фундаментальної медицини : збірник науково-практичної конференції, 14 квітня 2017 р., Харків. 2017. С. 154–155.

28. Оніщенко А.І. Оцінка відсотка ранньоапоптотичних, пізньоапоптотичних / некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів у хворих на хронічний поліпозний риносинуїт // Актуальні питання лабораторної медицини: Матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів, 20 – 21 листопада 2018., Харків. 2018. С. 67.

29. Оніщенко А.І., Набатян К. А., Нечипорук І. А. Зміни сироваткової ММР-9 у хворих на хронічний поліпозний риносинуїт // Актуальні проблеми експериментальної і клінічної біохімії : матеріали VI Міжвузівської навчально-практичної конференції з міжнародною участю, Харків, 22 травня 2017 г., Харків. 2017. С. 17–18.

30. Оніщенко А.І., Наконечна О.А., Ткаченко А.С., Калашник Ю.М., Корнієнко Є.М., Стеценко С.О., Посохов Є.О., Дорошенко А.О. Дослідження еритроцитів при хронічному гнійному риносинуситі у стадії загострення методом флуоресцентних зондів // Буковинський медичний вісник. 2018. Т. 22, № 1 (85). С. 79-85.

31. Оніщенко А.І., Наконечна О.А., Ткаченко А.С., Корнієнко Є.М., Ткачова Т.М., Єфімова С.Л., Рищенко І.М., Циганков О.В., Посохов Є.О. Дослідження цитоплазматичних мембран клітин епітелію слизової оболонки носа у хворих на хронічний гнійний риносинуїт методом флуоресцентних зондів // Український журнал медицини, біології та спорту. 2017. Т 3. № 7(16). С. 135-139.

32. Оніщенко А.І., Посохов Є.О., Ткаченко А.С., Корнієнко Є.М. Оцінка стану ліпідного бішару мембран еритроцитів при хронічному поліпозному риносинуситі: дослідження за допомогою флуоресцентного зонда RH7 // Медицина третього тисячоліття : збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів, 22–24 січня 2018 р., Харків. 2018. С. 51.

33. Оніщенко А.І., Ткаченко А.С. Визначення факторів, що впливають на диференціювання незрілих CD4+ клітин у хворих на хронічний поліпозний риносинуїт // Здобутки клінічної та експериментальної медицини: Підсумкова LX науково-практична конференція, 17 червня 2017., Тернопіль. 2017. С. 204 – 205.

34. Оніщенко А.І., Ткаченко А.С., Моїсеєнко Л.В., Іншина Є.О. Вміст 8-ізопростану у сироватці крові при хронічному гнійному риносинуситі // Актуальні проблеми сучасної хімії : Матеріали II

Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих науковців, 24 – 25 травня 2018 р., Миколаїв. 2018. С. 75–76.

35. Орто-гидроксиды производные 2,5-дифенил-1,3-оксазола и 2,5-дифенил-1,3,4-оксадиазола в качестве флуоресцентных зондов для медико-биологических исследований / Посохов Е.А., Абманова Н.А., Бойко Т.П., Дорошенко А.О. // Вісник Харківського Університету. 1999. № 454, С.188-190.

36. Орто-гидроксиды производные 2,5-дифенил-1,3-оксазола и 2,5-дифенил-1,3,4-оксадиазола в качестве флуоресцентных зондов для токсикологических исследований модельных биомембран / Посохов Е.А., Бойко Т.П., Бевзюк Д.А. // Вестник Харьковского национального университета., Серия «химия». 2001. №7 (30). С.192-194.

37. Посохов Е.А. Орто-гидроксиды производные 2,5-дифенил-1,3-оксазола и 2,5-дифенил-1,3,4-оксадиазола в качестве флуоресцентных зондов для токсикологических исследований мембран клеток обонятельного анализатора крыс // Вісник Харківського національного університету., Серія «хімія». 2011. № 20 (43). С. 92-99.

38. Реакция с тиобарбитуровой кислотой для определения МДА крови методом фотометрии / Федорова Т.М., Коршунова Т.С., Ларский Е.Г. // Лаб. дело. 1983. №3. С. 25–28.

39. Реакция фотопереноса протона в возбужденном состоянии в ряду орто-окси-производных 2,5-диариллоксазола / Дорошенко А.О., Посохов Е.А., Шершуков В.М., Митина В.Г., Пономарев О.А. // Химия высоких энергий. 1997. №31(36). С. 428-435.

40. Роль цитокинов в воспалительном процессе (сообщение 1) / Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж. // Сиб. мед. журн. (Иркутск). 2008. №6. С. 5-8.

41. Роль цитокинов в воспалительном процессе (сообщение 2) / Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж. // Сиб. мед. журн. (Иркутск). 2008. №8. С. 5-8.

42. Состояние показателей системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у девушек-подростков разных групп здоровья / Колесникова Л.И., Власов Б.Я., Кравцова О.В., Долгих М.И., Натяганова Л.В. // Вестник Российской академии медицинских наук. 2014. №69 (3-4). С. 50-54.

43. Справочник по прикладной статистике: в 2 т. / перевод с англ.; под ред. Ллойда Э., Ледермана У., Тюрина Ю.Н. // М.: Финансы и статистика. 1989. Т. 1. 510 с.

44. Стагниева И.В., Симбирцев А.С. Эффективность иммуномодулирующей терапии у больных риносинуситом. // Медицинская иммунология. 2015. Том 17, №5. С. 423-430.

45. Стан прооксидантно-антиоксидантної системи при хронічному експериментальному гастроентероколіті / Ткаченко А.С., Гопкалов В.Г. // Вісник проблем біології і медицини. 2014. Т. 1, Вип. 1 (106). С. 194–198.

46. Шкорботун В.А. Гострі запальні захворювання приносових синусів // Український медичний часопис. 2014. № 2 (100), III/IV.

47. A comprehensive review of the nasal microbiome in chronic rhinosinusitis (CRS) / Mahdavinia M., Keshavarzian A., Tobin M.C., Landay A., Schleimer R.P. // Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology. 2016. Vol. 46, N 1. P. 21-41. doi:10.1111/cea.12666.

48. Alameddine H.S, Morgan J.E. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases in Inflammation and Fibrosis of Skeletal Muscles // Journal of Neuromuscular Diseases. 2016. №3(4). P. 455-473. doi:10.3233/JND-160183.

49. Ali ME-S., Pearson J.P. More Than One Disease Process in Chronic Sinusitis Based on Mucin Fragmentation Patterns and Amino Acid Analysis // International Journal of Otolaryngology. 2015. Vol. 2015:708475. doi:10.1155/2015/708475.

50. Alobid I., Mullol J. Management of rhinosinusitis today // *Clin Pulm Med.* 2008. Vol. 15. P. 332-341.
51. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy attenuates pulmonary fibrosis in mice / Inoshima I., Kuwano K., Hamada N., Hagimoto N., Yoshimi M., Maeyama T., Takeshita A., Kitamoto S., Egashira K., Hara N. // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2004, May. Vol. 286, N 5. P. 1038-1044.
52. Apoptosis and beyond: cytometry in studies of programmed cell death / Wlodkovic D., Telford W., Skommer J., Darzynkiewicz Z. // *Methods in Cell Biology.* 2011. Vol. 103. P. 55-98.
53. Apoptosis, necrosis and necroptosis: cell death regulation in the intestinal epithelium / Günther C., Neumann H., Neurath M.F., Becker C. // *Gut.* 2013. Vol. 62, N 7. P. 1062-1071.
54. Apoptotic interactions of cytochrome c: redox flirting with anionic phospholipids within and outside of mitochondria / Bayir H., Fadeel B., Palladino M.J., Witasz E., Kurnikov I.V., Tyurina Y.Y. // *Biochim Biophys Acta.* 2006. Vol. 1757. P. 648–659.
55. Arango Duque G., Descoteaux A. Macrophage Cytokines: Involvement in Immunity and Infectious Diseases // *Frontiers in Immunology.* 2014. Vol. 5:491. doi:10.3389/fimmu.2014.00491.
56. Arroyo A.G., Iruela-Arispe M.L. Extracellular matrix, inflammation, and the angiogenic response // *Cardiovasc Res.* 2010. Vol. 86(2). P. 226-235. doi: 10.1093/cvr/cvq049.
57. Aungier S., Midwood K. The extracellular matrix: a new dimension in disease diagnosis and treatment // *Biochemist.* 2016. Vol 38. P. 10-15.
58. Baba S., Kagoya R., Kondo K., Suzukawa M., Ohta K., Yamasoba T. T-cell phenotypes in chronic rhinosinusitis with nasal polyps in Japanese patients // *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2015 Nov 19. doi: 10.1186/s13223-015-0100-2.
59. Bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis; distribution and prevalence / Arild Danielsen K, Eskeland O., Fridrich-Aas K., Cecilie Orszagh

V., Bachmann-Harildstad G., Burum-Auensen E. // *Acta Otolaryngol.* 2016. Vol.136(1). P. 109-112. doi: 10.3109/00016489.2015.1092169.

60. Balance of profibrotic and antifibrotic [corrected] signaling in nephrogenic systemic fibrosis skin lesions / Schieren G., Gambichler T., Skrygan M., Burkert B., Altmeyer P., Rump L.C., Kreuter A. // *Am J Kidney Dis.* 2010, Jun. Vol. 55, N 6. P.1040-1049. doi: 10.1053/j.ajkd.2010.01.021.

61. Barry Halliwell, Chung Yung J. Lee. Using Isoprostanes as Biomarkers of Oxidative Stress: Some Rarely Considered Issues // *Antioxidants & Redox Signaling.* 2010. Vol. 13, N 2. P. 145-156. <http://doi.org/10.1089/ars.2009.2934>.

62. Beule A. Epidemiology of chronic rhinosinusitis, selected risk factors, comorbidities, and economic burden // *GMS Current Topics in Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery.* 2015. Vol. 14, Doc11. doi:10.3205/cto000126.

63. Bhattacharyya N. The role of CT and MRI in the diagnosis of chronic rhinosinusitis // *Curr Allergy Asthma Rep.* 2010. Vol. 10, N 3. P. 171-174. doi: 10.1007/s11882-010-0103-5.

64. Biofilms in chronic rhinosinusitis: Pathophysiology and therapeutic strategies / Fastenberg J.H., Hsueh W.D., Mustafa A., Akbar N.A., Abuzeid W.M. // *World Journal of Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery.* 2016. Vol. 2, N 4. P. 219-229. doi:10.1016/j.wjorl.2016.03.002.

65. Biswas S.K. Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2016. Vol. 2016:5698931. doi:10.1155/2016/5698931.

66. Bonnans C., Chou J., Werb Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease // *Nature reviews Molecular cell biology.* 2014. Vol.15, N12. P. 786-801. doi:10.1038/nrm3904.

67. Bradley J.R. TNF-mediated inflammatory disease // *J Pathol.* 2008. Vol. 214, N 2. P. 149-160.

68. Cavaillon J.M. Pro- versus anti-inflammatory cytokines: myth or reality // *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2001. Vol. 47, N 4. P. 695-702.

69. Chakrabarti S., Patel K.D. Regulation of matrix metalloproteinase-9 release from IL-8-stimulated human neutrophils // *J Leukoc Biol*. 2005. Vol. 78, N1. P. 279-288.

70. Chan J., Hadley J. The microbiology of chronic rhinosinusitis: results of a community surveillance study // *Ear, nose, & throat journal*. 2001. Vol. 80. P. 143–145.

71. Characterization of bacterial and fungal biofilms in chronic rhinosinusitis / Foreman A., Psaltis A.J., Tan L.W., Wormald P.J. // *American journal of rhinology & allergy*. 2009. Vol. 23. P. 556–561.

72. Chemoattractants and cytokines in primary ciliary dyskinesia and cystic fibrosis: key players in chronic respiratory diseases / Cockx M., Gouwy M., Van Damme J., Struyf S. // *Cell Mol Immunol*. 2018 Apr. Vol. 15, N 4. P. 312-323. doi: 10.1038/cmi.2017.118.

73. Chemokine interactome mapping enables tailored intervention in acute and chronic inflammation / Von Hundelshausen P., Agten S.M., Eckardt V., Blanchet X., Schmitt M.M., Ippel H., Neideck C., Bidzhekov K., Leberzammer J., Wichapong K., Faussner A., Drechsler M., Grommes J., van Geffen J.P., Li H., Ortega-Gomez A., Megens R.T., Naumann R., Dijkgraaf I., Nicolaes G.A., Döring Y., Soehnlein O., Lutgens E., Heemskerk J.W., Koenen R.R., Mayo K.H., Hackeng T.M., Weber C. // *Sci Transl Med*. 2017. Vol. 9, N 384 pii: eaah6650. doi: 10.1126/scitranslmed.aah6650.

74. Chemokines and immunity / Palomino, Diana Carolina Torres, Marti, Luciana Cavalheiro. // *Einstein (São Paulo)*. 2015. Vol. 13, N 3. P. 469-473. <https://dx.doi.org/10.1590/S1679-45082015RB3438>

75. Chemokines in inflammatory and immune diseases / Kouji Matsushima, Yuya Terashima, Etsuko Toda, Francis Shand, Satoshi Ueha // *Inflammation and Regeneration*. 2011. Vol. 31, N 1. P. 11-22. <http://doi.org/10.2492/inflammregen.31.11>

76. Cho S.H., Kim D.W., Gevaert P. Chronic Rhinosinusitis without Nasal Polyps // *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2016 Jul-Aug. Vol. 4, N 4. P. 575-582. doi: 10.1016/j.jaip.2016.04.015.

77. Chronic Inflammation and Cytokines in the Tumor Microenvironment / Landskron G., De la Fuente M., Thuwajit P., Thuwajit C., Hermoso M. A. // *Journal of Immunology Research.* 2014. Vol. 2014. Article ID 149185. 19 p. doi:10.1155/2014/149185.

78. Chronic rhinosinusitis in European underestimated disease. A GALEN study / Hastan D., Fokkens W.J., Bachert C., Newson R.B., Bislimovska J., Bockelbrink A., Bousquet P.J., Brozek G., Bruno A., Dahlén S.E., Forsberg B., Gunnbjörnsdóttir M., Kasper L., Krämer U., Kowalski M.L., Lange B., Lundbäck B., Salagean E., Todo-Bom A., Tomassen P., Toskala E., van Drunen C.M., Bousquet J., Zuberbier T., Jarvis D., Burney P. // *Allergy.* 2011. Vol. 66, N 9. P. 1216-1223. doi: 10.1111/j.1398-9995.2011.02646.x.

79. Chronic Rhinosinusitis Pathogenesis / Stevens W.W., Lee R.J., Schleimer R.P., Cohen N.A. // *The Journal of allergy and clinical immunology.* 2015. Vol. 136, N 6. P. 1442-1453. doi:10.1016/j.jaci.2015.10.009.

80. Chronic rhinosinusitis with nasal polyps is characterized by dysbacteriosis of the nasal microbiota / Chalermwatanachai T., Vilchez-Vargas R., Holtappels G., et al. // *Scientific Reports.* 2018. Vol. 8:7926. doi:10.1038/s41598-018-26327-2.

81. Chronic rhinosinusitis: correlation of symptoms with computed tomography scan findings / Amodu E.J., Fasunla A.J., Akano A.O., Daud Olusesi A. // *The Pan African Medical Journal.* 2014; Vol. 18:40. doi:10.11604/pamj.2014.18.40.2839.

82. Cilia Dysfunction in Lung Disease / Tilley A.E., Walters M.S., Shaykhiev R., Crystal R.G. // *Annual review of physiology.* 2015. Vol. 77. P. 379-406. doi:10.1146/annurev-physiol-021014-071931.

83. Classification of chronic rhinosinusitis according to a nasal polyp and tissue eosinophilia: limitation of current classification system for Asian

population / Cho S.W., Kim D.W., Kim J.W., Lee C.H., Rhee C. S. // *Asia Pac Allergy*. 2017, Jul. Vol. 7, N 3. P. 121–130.

84. Clinical practice guideline: adult sinusitis / Rosenfeld R.M., Andes D., Bhattacharyya N., et al. // *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2007. Vol. 137, suppl. 3. P. 1-31.

85. Compositionally and functionally distinct sinus microbiota in chronic rhinosinusitis patients have immunological and clinically divergent consequences / Cope E.K, Goldberg A.N, Pletcher S.D, Lynch S.V. // *Microbiome*. 2017. Vol. 5:53. doi:10.1186/s40168-017-0266-6.

86. Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy / Nikolettou V., Markaki M., Palikaras K., Tavernarakis N. // *Biochim Biophys Acta*. 2013. Vol. 1833, N 12. P. 3448-3459.

87. CX3CL1: a potential new target for inflammatory diseases / Jones B.A., Beamer M., Ahmed S. // *Fractalkine Mol. Interv*. 2010. Vol. 10, N 5. P. 263–270.

88. CXCR4 signaling in health and disease / Pozzobon T., Goldoni G., Viola A., Molon B. // *Immunology Letters*. 2016. Vol. 177. P. 6-15.

89. Cytokine patterns in nasal secretion of non-atopic patients distinguish between chronic rhinosinusitis with or without nasal polyps / König K., Klemens C., Haack M., et al. // *Allergy, Asthma, and Clinical Immunology: Official Journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology*. 2016. Vol. 12:19. doi:10.1186/s13223-016-0123-3.

90. Cytokines in Chronic Rhinosinusitis. Role in Eosinophilia and Aspirin-exacerbated Respiratory Disease / Stevens W.W., Ocampo C.J., Berdnikovs S., Sakashita M., Mahdavinia M., Suh L., Takabayashi T., Norton J.E., Hulse K.E., Conley D.B., Chandra R.K., Tan B.K., Peters A.T., Grammer L.C., Kato A., Harris K.E., Carter R.G., Fujieda S., Kern R.C., Schleimer R.P. // *Am J Respir Crit Care Med*. 2015. Vol. 192, N 6. P. 682-694. doi: 10.1164/rccm.201412-2278OC.

91. Cytometric assessment of mitochondria using fluorescent probes / Cottet-Rousselle C., Ronot X., Leverve X., Mayol J.F. // *Cytometry A*. 2011. Vol. 79, N 6. P. 405-425.
92. Czerska M., Zieliński M., Gromadzińska J. Isoprostanes - A novel major group of oxidative stress markers // *Int J Occup Med Environ Health*. 2016. Vol. 29, N 2. P.179-190. doi: 10.13075/ijomeh.1896.00596.
93. Davidovich P., Kearney C.J., Martin S.J. Inflammatory outcomes of apoptosis, necrosis and necroptosis // *Biol Chem*. 2014 Oct. Vol. 395, N 10. P. 1163-1171. doi: 10.1515/hsz-2014-0164.
94. DeConde A.S., Soler Z.M. Chronic rhinosinusitis: Epidemiology and burden of disease // *Am J Rhinol Allergy*. 2016. Vol. 30, N 2. P. 134-139. doi: 10.2500/ajra.2016.30.4297.
95. Decreased diversity of nasal microbiota and their secreted extracellular vesicles in patients with chronic rhinosinusitis based on a metagenomic analysis / Choi E.B., Hong S.W., Kim D.K., Jeon S.G., Kim K.R., Cho S.H., Gho Y.S., Jee Y.K., Kim Y.K. // *Allergy*. 2014. Vol. 69. P.517–526.
96. Different activations of toll-like receptors and antimicrobial peptides in chronic rhinosinusitis with or without nasal polyposis / Hirschberg A., Kiss M., Kadocsa E., Polyanka H., Szabo K., Razga Z., Bella Z., Tiszlavicz L., Kemeny L. // *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016, Jul. Vol. 273, N 7. P. 1779-1788. doi: 10.1007/s00405-015-3816-1.
97. Differential expression of the fractalkine chemokine receptor (CX3CR1) in human monocytes during differentiation / Panek C.A., Ramos M.V., Mejias M.P., Abrey-Recalde M.J., Fernandez-Brando R.J., Gori M.S., Salamone G.V., Palermo M.S. // *Cell Mol Immunol*. 2015, Nov. Vol. 12, N 6. P. 669-680. doi: 10.1038/cmi.2014.116. Epub 2014 Dec 15.
98. Differential expression of tumor necrosis factor α , interleukin 1 β , nuclear factor κ B in nasal mucosa among chronic rhinosinusitis patients with and without polyps / Plewka D., Grzanka A., Drzewiecka E., et al. // *Postepy Dermatol Alergol*. 2017. Vol. 34, N 3. P. 199-206.

99. Differential neutrophil chemotactic response towards IL-8 and bacterial N-formyl peptides in term newborn infants / Stålhammar M.E., Douhan Håkansson L., Jonzon A., Sindelar R. // *Ups J Med Sci*. 2017. Vol. 122, N 1. P. 35-42. doi: 10.1080/03009734.2016.1228721.

100. Differentially Expressed miRNA in Inflammatory Mucosa of Chronic Rhinosinusitis / Xia G., Bao L., Gao W., Liu S., Ji K., Li J. // *J Nanosci Nanotechnol*. 2015. Vol. 15, N 3. P. 2132-2139.

101. Diminished induction of skin fibrosis in mice with MCP-1 deficiency / Ferreira A.M., Takagawa S., Fresco R., Zhu X., Varga J., DiPietro L.A. // *J Invest Dermatol*. 2006. Vol. 126, N 8. P. 1900-1908.

102. Dinarello C.A. Historical Review of Cytokines // *European journal of immunology*. 2007. Vol. 37, suppl 1. P. 34-45. doi:10.1002/eji.200737772.

103. Distribution of matrix metalloproteinases MMP-1, MMP-2, MMP-8 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-2 in nasal polyposis and chronic rhinosinusitis / Eyibilen A., Cayli S., Aladag I., Koç S., Gurbuzler L., Atay G.A. // *Histol Histopathol*. 2011 May. Vol. 26, N. 5. P.615-621. doi: 10.14670/HH-26.615.

104. E Kebir D, Filep J.G. Modulation of Neutrophil apoptosis and the resolution of inflammation through $\beta 2$ integrins // *Frontiers in Immunology*. 2013. Vol. 4: 60.

105. Effect of Subcutaneous Dupilumab on Nasal Polyp Burden in Patients With Chronic Sinusitis and Nasal PolyposisA Randomized Clinical Trial / Bachert C., Mannent L., Naclerio R.M., Mullol J., Ferguson B.J., Gevaert P., Hellings P., Jiao L., Wang L., Evans R.R., Pirozzi G., Graham N.M., Swanson B., Hamilton J.D., Radin A., Gandhi N.A., Stahl N., Yancopoulos G.D., Sutherland E.R. // *JAMA*. 2016. Vol. 315(5). P. 469-479. doi:10.1001/jama.2015.19330

106. Elfsmark L., Ågren L., Akfur C., Bucht A., Jonasson S. 8-Isoprostane is an early biomarker for oxidative stress in chlorine-induced acute

lung injury // *Toxicol Lett.* 2018 Jan 5. Vol. 282. P. 1-7. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.10.007.

107. EMT and inflammation: inseparable actors of cancer progression / Suarez Carmona M., Lesage J., Cataldo D., Gilles C. // *Molecular Oncology.* 2017. Vol. 11, N 7. P. 805-823. doi:10.1002/1878-0261.12095.

108. Eosinophilic fungal rhinosinusitis: a common disorder in Europe? / Braun H., Buzina W., Freudenschuss K., Beham A., Stammberger H. // *The Laryngoscope.* 2003. Vol. 113. P. 264–269.

109. Epigenetics of Chronic Rhinosinusitis and the Role of the Eosinophil / Seiberling K.A, Church C.A., Herring J., Sowers L. // *International forum of allergy & rhinology.* 2012. Vol. 2, N 1. P. 80-84. doi:10.1002/alr.20090.

110. Epithelial-mesenchymal transition: An emerging target in tissue fibrosis / Li M., Luan F., Zhao Y., Hao H., Zhou Y., Han W., Fu X. // *Exp Biol Med.* 2016. Vol. 241, N 1. P. 1-13. doi: 10.1177/1535370215597194.

111. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps / Fokkens W.J., Lund V.J., Mullol J. et al. // *Rhinol. Suppl.* 2012. Vol. 23 . P. 1–298.

112. Evaluation of oxidative DNA damage and antioxidant defense in patients with nasal polyps / Mrowicka M., Zielinska-Blizniewska H., Milonski J., Olszewski J., Majsterek I. // *Redox Rep.* 2015, Jul. Vol. 20, N 4. P.177-183. doi: 10.1179/1351000215Y.0000000001.

113. Excited state intramolecular proton transfer reaction and luminescent properties of the ortho-hydroxy derivatives of 2,5-diphenyl-1,3,4-oxadiazole / Doroshenko A.O., Posokhov E.A., Verezubova A.A., Ptyagina L.M. // *J Phys Org Chem.* 2000. Vol. 13. P. 253-265. doi: 10.1002/1099-1395(200005)13:5<253::AID-POC238>3.0.CO;2-D

114. Expression analysis of VEGFA, FGF2, TGFbeta1, EGF and IGF1 in human nasal polyposis / Zaravinos A., Soufla G., Bizakis J., Spandidos D.A. // *Oncol Rep.* 2008. Vol. 19. P. 385–391.

115. Expression and regulation of interleukin-9 in chronic rhinosinusitis / Lin H., Lin D., Xiong X.S., Dai X.X., Lin T. // *Am J Rhinol Allergy*. 2015. Vol. 29, N 1. P. 18-23. doi: 10.2500/ajra.2015.29.4136.
116. Expression of RANTES, eotaxin-2, ICAM-1, LFA-1 and CCR-3 in chronic rhinosinusitis patients with nasal polyposis / Cavallari F.E., Valera F.C., Gallego A.J., Malinsky R.R., Küpper D.S., Milanezi C., Silva J.S., Tamashiro E., Anselmo-Lima W.T. // *Acta Cir Bras*. 2012. Vol. 27, N 9. P. 645-649.
117. Expression of TGF, matrix metalloproteinases, and tissue inhibitors in Chinese chronic rhinosinusitis / Li X., Meng J., Qiao X., Liu Y., Liu F., Zhang N., Zhang J., Holtappels G., Luo B., Zhou P., Zheng Y., Lin P., Liu S., Bachert C. // *J Allergy Clin Immunol*. 2010, May. Vol. 125, N 5. P. 1061-1068. doi: 10.1016/j.jaci.2010.02.023.
118. Fahey S., Dempsey E., Long A. The role of chemokines in acute and chronic hepatitis C infection // *Cellular and Molecular Immunology*. 2014. Vol. 11, N 1. P. 25-40. doi:10.1038/cmi.2013.37.
119. Falzone N., Huyser C., Franken D.R. Comparison between propidium iodide and 7-amino-actinomycin-D for viability assessment during flow cytometric analyses of the human sperm acrosome // *Andrologia*. 2010. Vol. 42. P. 20–26.
120. Flow cytometry: basic principles and applications / Adan A, Alizada G, Kiraz Y, Baran Y, Nalbant A. // *Crit Rev Biotechnol*. 2017. Vol. 37, №2. P. 163-176.
121. Fokkens W., Lund V., Mullol J. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps Group European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps // *Rhinology*. 2007. Vol. 45, suppl. 20. P. 1-139
122. Gern J.E. How rhinovirus infections cause exacerbations of asthma // *Clin Exp Allergy*. 2015 Jan. Vol. 45, N 1. P. 32-42. doi: 10.1111/cea.12428.
123. Giannandrea M., Parks W.C. Diverse functions of matrix metalloproteinases during fibrosis // *Disease Models & Mechanisms*. 2014. Vol. 7, N 2. P. 193-203. doi:10.1242/dmm.012062.

124. Griffith J.W., Sokol C.L., Luster A.D. Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity // *Annu Rev Immunol*. 2014. Vol. 32. P. 659-702. PMID: 24655300. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120145
125. Gudis D., Zhao K., Cohen N.A. Acquired cilia dysfunction in chronic rhinosinusitis // *American Journal of Rhinology & Allergy*. 2012. Vol. 26, N 1. P. 1-6. doi:10.2500/ajra.2012.26.3716.
126. Hamilos D.L. Drivers of chronic rhinosinusitis: Inflammation versus infection // *J Allergy Clin Immunol*. 2015, Dec. Vol. 136, N 6. P. 1454-1459. doi: 10.1016/j.jaci.2015.10.011.
127. Hamilos D.L. Host-microbial interactions in patients with chronic rhinosinusitis // *J Allergy Clin Immunol*. 2014, Mar. Vol. 133, N 3. P. 640-653. e4. doi: 10.1016/j.jaci.2013.06.049.
128. Hiemstra P.S., McCray P.B., Bals R. The innate immune function of airway epithelial cells in inflammatory lung disease // *The European respiratory journal*. 2015. Vol. 45, N 4. P. 1150-1162. doi:10.1183/09031936.00141514.
129. HIF-1 α promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis through direct regulation of ZEB1 in colorectal cancer / Zhang W., Shi X., Peng Y., Wu M., Zhang P., Xie R., Wu Y., Yan Q., Liu S., Wang J. // *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10, N 6. e0129603. doi:10.1371/journal.pone.0129603.
130. High Rates of Detection of Respiratory Viruses in the Nasal Washes and Mucosae of Patients with Chronic Rhinosinusitis / Cho G.S., Moon B-J, Lee B-J, et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. 2013. Vol.51, N3. P. 979-984. doi:10.1128/JCM.02806-12.
131. Hoesel B., Schmid J.A. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer // *Molecular Cancer*. 2013. Vol. 12:86. doi:10.1186/1476-4598-12-86.
132. Holdsworth S.R., Gan P.Y. Cytokines: Names and Numbers You Should Care // *AboutCJASN*. 2015. Vol. 10, N 12. P. 2243-2254.

133. Hypoxia induces epithelial-mesenchymal transition via activation of SNAI1 by hypoxia-inducible factor-1 α in hepatocellular carcinoma / Zhang L., Huang G., Li X., Zhang Y., Jiang Y., Shen J., Liu J., Wang Q., Zhu J., Feng X., Dong J., Qian C. // *BMC Cancer*. 2013. Vol. 13:108. doi:10.1186/1471-2407-13-108.

134. ICON: chronic rhinosinusitis / Bachert C., Pawankar R., Zhang L., Bunnag C., Fokkens W.J., Hamilos D.L., Jirapongsananuruk O., Kern R., Meltzer E.O., Mullol J., Naclerio R., Pilan R., Rhee C.S., Suzaki H., Voegels R., Blaiss M. // *The World Allergy Organization Journal*. 2014. Vol. 7:25. doi:10.1186/1939-4551-7-25.

135. IL-8-induced neutrophil chemotaxis is mediated by janus kinase 3 (JAK3) / Henkels K.M., Frondorf K., Gonzalez-Mejia M.E., Doseff A.L., Gomez-Cambronero J. // *FEBS letters*. 2011. Vol. 585, N 1. P. 159-166. doi:10.1016/j.febslet.2010.11.031.

136. IL-8, IL-12 and IL-10 cytokines generation by neutrophils, fibroblasts and neutrophils- fibroblasts interaction in psoriasis / Glowacka E., Lewkowicz P., Rotsztejn H., Zalewska A. // *Adv Med Sci*. 2010. Vol. 55, N 2. P. 254-260. doi: 10.2478/v10039-010-0037-0.

137. Increased level of interleukin-13, but not interleukin-4 and interferon- γ in chronic rhinosinusitis with nasal polyps / Nabavi M., Arshi S., Bahrami A., Aryan Z., Bemanian M.H., Esmaeilzadeh H., Jalali F., Pousti S.B., Rezaei N. // *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2014, Sep-Oct. Vol. 42, N 5. P. 465-471. doi: 10.1016/j.aller.2013.06.007.

138. Induction of IL-8(CXCL8) and MCP-1(CCL2) with oxidative stress and its inhibition with N-acetyl cysteine (NAC) in cell culture model using HK-2 cell / Kumar A., Shalmanova L., Hammad A., Christmas S.E. // *Transpl Immunol*. 2016, Mar. Vol. 35. P. 40-46. doi: 10.1016/j.trim.2016.02.003.

139. Induction of MMP-9 expression and endothelial injury by oxidative stress after spinal cord injury / YU F., Kamada H., Niizuma K., Endo H., Chan

P.H. // *Journal of Neurotrauma*. 2008. Vol. 25, N 3. P. 184–195.
<http://doi.org/10.1089/neu.2007.0438>.

140. Induction of Th2 cell differentiation in the primary immune response: dendritic cells isolated from adherent cell culture treated with IL-10 prime naive CD4⁺ T cells to secrete IL-4 / Liu L., Rich B.E., Inobe J., Chen W., Weiner H.L. // *Int Immunol*. 1998, Aug. Vol. 10, N 8. P. 1017-1026.

141. Infection with human cytomegalovirus alters the MMP-9/TIMP-1 balance in human macrophages / Strååt K., de Klark R., Gredmark-Russ S., Eriksson P., Söderberg-Nauclér C. // *Journal of Virology*. 2009. Vol. 83, N 2. P. 830-835. doi:10.1128/JVI.01363-08.

142. Inflammatory endotypes of chronic rhinosinusitis based on cluster analysis of biomarkers / Tomassen P., Vandeplas G., Van Zele T., Cardell L.O., Arebro J., Olze H., Förster-Ruhrmann U., Kowalski M.L., Olszewska-Ziaber A., Holtappels G., De Ruyck N., Wang X., Van Drunen C., Mullol J., Hellings P., Hox V., Toskala E., Scadding G., Lund V., Zhang L., Fokkens W., Bachert C. // *J Allergy Clin Immunol*. 2016. Vol. 137, N 5. P. 1449-1456. e4. doi:10.1016/j.jaci.2015.12.1324.

143. Interleukin 10 inhibits TNF-alpha production in human monocytes independently of interleukin 12 and interleukin 1 beta / Shin D.I., Banning U., Kim Y.M., Verheyen J., Hannen M., Bönig H., Körholz D. // *Immunol Invest*. 1999, Mar-May. Vol. 28, N 2-3. P. 165-175.

144. Interleukin-1 alpha modulates neutrophil recruitment in chronic inflammation induced by hydrocarbon oil / Lee P.Y., Kumagai Y., Xu Y., et al. // *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2011. Vol. 186, N 3. P.1747-1754. doi:10.4049/jimmunol.1001328.

145. Interleukin-10 inhibits tumor necrosis factor-alpha production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells through reduced MyD88 expression / Dagvadorj J., Naiki Y., Tumurkhuu G., Hassan F., Islam S., Koide N., Mori I., Yoshida T., Yokochi T. // *Innate Immun*. 2008 Apr. Vol. 14, N 2. P. 109-115. doi: 10.1177/1753425908089618.

146. Interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α : reliable targets for protective therapies in Parkinson's Disease? / Leal M.C., Casabona J.C., Puntel M., Pitossi F.J. // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2013. Vol. 7:53. doi:10.3389/fncel.2013.00053.

147. Isoprostane Generation and Function / Milne G.L., Yin H., Hardy K.D., Davies S.S., Roberts L.J. // *Chemical reviews*. 2011. Vol. 111. N 10. P. 5973-5996. doi:10.1021/cr200160h.

148. Jabłońska-Trypuć A., Matejczyk M., Rosochacki S. Matrix Metalloproteinases (MMPs), the Main Extracellular Matrix (ECM) Enzymes in Collagen Degradation, as a Target for Anticancer Drugs // *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2016. Vol. 31 (Supp.1). P. 177-183.

149. Kato A. Immunopathology of chronic rhinosinusitis // *Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology*. 2015. Vol. 64, N 2. P. 121-130. doi:10.1016/j.alit.2014.12.006.

150. Kidd M.E., Shumaker D.K., Ridge K.M. The role of vimentin intermediate filaments in the progression of lung cancer // *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2014. Vol. 50, N 1. P. 1-6. doi:10.1165/rcmb.2013-0314TR.

151. Korde A., Zhang X., Takyar S.S. MicroRNA-1 Levels Determine The Type Of Inflammatory Remodeling In Chronic RhINOSinusitis // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2017. Vol. 195, A1357.

152. Kurutas E.B. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state // *Nutrition Journal*. 2016. Vol. 15:71. doi:10.1186/s12937-016-0186-5.

153. Lam K., Schleimer R., Kern R.C. The etiology and pathogenesis of chronic rhinosinusitis: a review of current hypotheses // *Current allergy and asthma reports*. 2015. Vol. 15(7): 41. doi:10.1007/s11882-015-0540-2.

154. Li X., Tao Y., Li X. Expression of MMP-9/TIMP-2 in nasal polyps and its functional implications // *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2015. Vol. 8, N 11. P. 14556-14561.

155. Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal / Salzano S., Checconi P., Hanschmann E.M., et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014. Vol. 111, N 33. P. 12157-12162. doi:10.1073/pnas.1401712111.

156. Lobo J., Zariwala M.A., Noone P.G. Primary Ciliary Dyskinesia // *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2015. Vol. 36, N 2. P. 169-179. doi:10.1055/s-0035-1546748.

157. London N.R., Lane A.P. Innate immunity and chronic rhinosinusitis: What we have learned from animal models // *Laryngoscope Investigative Otolaryngology*. 2016. Vol. 1, N 3. P. 49-56. doi:10.1002/lio2.21.

158. López-Chacón M, Mullol J, Pujols L. Clinical and biological markers of difficult-to-treat severe chronic rhinosinusitis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015 May;15(5):19. doi: 10.1007/s11882-015-0520-6.

159. López-Novoa J.M., Nieto M.A. Inflammation and EMT: an alliance towards organ fibrosis and cancer progression // *EMBO Molecular Medicine*. 2009. Vol. 1(6-7). P. 303-314. doi:10.1002/emmm.200900043.

160. LTD4 and TGF- β 1 Induce the Expression of Metalloproteinase-1 in Chronic Rhinosinusitis via a Cysteinyl Leukotriene Receptor 1-Related Mechanism / Pezato R., Claeys C., Holtappels G., Bachert C., Pérez-Novo C.A. // *Sinusitis*. 2016. Vol. 1. P. 65-75.

161. Lund V., Fokkens W., Mullol J. Evidence-based management of rhinosinusitis and nasal polyps in adults // *ENT News*. 2009. Vol. 17, P. 45-49.

162. Major secretory mucin expression in chronic sinusitis. *Otolaryngology* / Ali M.S., Hutton D.A., Wilson J.A., Pearson J.P. // *Head and Neck Surgery*. 2005. Vol.133, № 3. P. 423–428. doi: 10.1016/j.otohns.2005.06.005.

163. Mapping and comparing bacterial microbiota in the sinonasal cavity of healthy, allergic rhinitis, and chronic rhinosinusitis subjects / Lal D., Keim P., Delisle J., Barker B., Rank M.A., Chia N., Schupp J.M., Gillece J.D., Cope E.K.

// Int Forum Allergy Rhinol. 2017, Jun. Vol. 7, N 6. P. 561-569. doi: 10.1002/alr.21934.

164. Matrix metalloproteinase-9 cooperates with transcription factor Snail to induce epithelial-mesenchymal transition / Lin C.Y., Tsai P.H., Kandaswami C.C., Lee P.P., Huang C.J., Hwang J.J., Lee M.T. // Cancer Sci. 2011. Vol. 102, N 4. P. 815-827. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.01861.x.

165. Matrix metalloproteinase-9: Many shades of function in cardiovascular disease / Yabluchanskiy A., Ma Y., Iyer R.P., Hall, M.E., Lindsey M.L. // Physiology. 2013. Vol. 28, N 6. P. 391-403. doi:10.1152/physiol.00029.2013.

166. Matrix metalloproteinases and their impact on sinusal extension in chronic rhinosinusitis with nasal polyps / Malinsky R.R., Valera F.C., Cavallari F.E., Küpper D.S., Milaneze C., Silva J.S., Tamashiro E., Anselmo-Lima W.T. // Eur Arch Otorhinolaryngol. 2013, Mar. Vol. 270, N 4. P. 1345-1348. doi: 10.1007/s00405-012-2219-9.

167. Matrix metalloproteinases and their inhibitors as markers of inflammation and fibrosis in chronic liver disease (Review) / Consolo M1, Amoroso A, Spandidos DA, Mazzarino MC. // Int J Mol Med. 2009 Aug. Vol. 24, N 2. P. 143-152.

168. Matusiewicz M. Extracellular Matrix Remodeling // Encyclopedia of Cancer. 2017, March, 10. P. 1362-1365.

169. MCP-1-induced ERK/GSK-3 β /Snail signaling facilitates the epithelial-mesenchymal transition and promotes the migration of MCF-7 human breast carcinoma cells / Li S., Lu J., Chen Y., Xiong N., Li L., Zhang J., Yang H., Wu C., Zeng H., Liu Y. // Cell Mol Immunol. 2017. Vol. 14, N 7. P. 621-630. doi: 10.1038/cmi.2015.106.

170. MCP1-induced epithelial-mesenchymal transition in head and neck cancer by AKT activation / Lee C.C., Ho H.C., Su Y.C., Lee M.S., Hung S.K., Lin C.H. // Anticancer Res. 2015. Vol. 35, N 6. P. 3299-3306.

171. Mechanisms underlying production and externalization of oxidized phosphatidylserine in apoptosis: involvement of mitochondria / Yamashita A., Morikawa H., Tajima N., et al. // *Yonago Acta medica*. 2012. Vol. 55, N 1. P. 11-20.

172. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation / Reiter R.J., Calvo J.R., Karbownik M., et al. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000. Vol. 917. P. 376–386.

173. Melatonin suppresses acrolein-induced IL-8 production in human pulmonary fibroblasts / Kim G.D., Lee S.E., Kim T.H., Jin Y.H., Park Y.S., Park C.S. // *J Pineal Res.* 2012, Apr. Vol. 52, N 3. P. 356-364. doi: 10.1111/j.1600-079X.2011.00950.x.

174. Meltzer E.O., Hamilos D.L. Rhinosinusitis Diagnosis and Management for the Clinician: A Synopsis of Recent Consensus Guidelines // *Mayo Clinic Proceedings*. 2011. Vol. 86, N 5. P. 427-443. doi:10.4065/mcp.2010.0392.

175. MicroRNAs and epigenetics / Sato F., Tsuchiya S., Meltzer S.J., Shimizu K. // *FEBS J.* 2011, May. Vol. 278, N 10. P. 1598-1609. doi: 10.1111/j.1742-4658.2011.08089.x.

176. Mirra V., Werner C., Santamaria F. Primary Ciliary Dyskinesia: An Update on Clinical Aspects, Genetics, Diagnosis, and Future Treatment Strategies // *Frontiers in Pediatrics*. 2017. Vol. 5:135. doi:10.3389/fped.2017.00135.

177. Mitochondrial membrane potential probes and the proton gradient: a practical usage guide / Perry S.W., Norman J.P., Barbieri J., Brown E.B., Gelbard H.A. // *BioTechniques*. 2011. Vol. 50, N 2. P. 98-115.

178. Mixed T helper cell signatures in chronic rhinosinusitis with and without polyps / Derycke L., Eyerich S., Van Crombruggen, et al. // *PLoS One*. 2014. Vol. 9. e97581.

179. MUC8 mucin gene up-regulation in chronic rhinosinusitis / Lee H.M., Kim D.H., Kim J.M., Lee S.H., Hwang S.J. // *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2004, Aug. Vol. 113, N 8. P. 662-666.

180. Mullol J. Trends on rhinosinusitis diagnosis and treatment // *Otolaryngol Pol*. 2009, Sep. Vol. 63, N 7. P. 3-4. doi: 10.1016/S0030-6657(09)70179-9.

181. NADPH oxidase derived reactive oxygen species are involved in human neutrophil IL-1 β secretion but not in inflammasome activation / Gabelloni M.L., Sabbione F., Jancic C., Fuxman Bass J., Keitelman I., Iula L., Oleastro M., Geffner J.R., Trevani A.S. // *Eur J Immunol*. 2013 Dec. Vol. 43, N 12. P. 3324-3335. doi: 10.1002/eji.201243089.

182. Nair SVG, Hettihewa M., Rupasinghe HPV. Apoptotic and inhibitory effects on cell proliferation of hepatocellular carcinoma HepG2 cells by methanol leaf extract of *Costus speciosus* // *BioMed Research International*. 2014. Vol. 2014:637098.

183. Nasal mucosal gene expression in patients with allergic rhinitis with and without nasal polyps / Fritz S.B., Terrell J.E., Conner E.R., Kukowska-Latallo J.F., Baker J.R. // *J Allergy Clin Immunol*. 2003. Vol. 112. P. 1057–1063. doi: 10.1016/j.jaci.2003.09.042.

184. Necroptosis: A novel manner of cell death, associated with stroke (Review) / Liu C., Zhang K., Shen H., Yao X., Sun Q., Chen G. // *Int J Mol Med*. 2018. Vol. 41, N 2. P. 624-630.

185. Neutrophils as a specific target for melatonin and kynuramines: effects on cytokine release / Silva S.O., Rodrigues M.R., Ximenes V.F., Buendia-Silva A.E., Amarante-Mendes G.P., Campa A. // *J Neuroimmunol*. 2004. Vol. 156, N 1-2. P. 146-152.

186. Nimse S.B., Palb D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms // *RSC Adv*. 2015. Vol. 5. P. 27986-28006 DOI: 10.1039/C4RA13315C

187. Olson T.S., Ley K. Chemokines and chemokine receptors in leukocyte trafficking // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2002, Jul. Vol. 283, N 1. P. 7-28.

188. On behalf of the European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps Group EPOS Primary Care Guidelines: European Position Paper on the Primary Care Diagnosis and Management of Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2007 / Thomas M., Yawn B., Price D., Lund V., Mullol J., Fokkens W. // *A summary Prim Care Resp J.* 2008. Vol. 17, N 2. P. 79-89.

189. Onischenko A. I., Nakonechna O. A., Tkachenko A. S., Kalashnik Yu. M. The content of MCP-1 and MMP-9 in blood serum of patients with chronic polypoid rhinosinusitis // *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University Series «MEDICINE».* 2017. №33. P.24-26.

190. Onishchenko A. Diagnostic significance of serum interleukin-12 determination in patients with exacerbation of chronic purulent rhinosinusitis // *8th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry, Lublin, 18–20 september 2017. – Lublin : Medical University of Lublin, 2017. – P. 68.*

191. Onishchenko A.I., Lupyr A.V., Tkachenko A.S., Gorbach T.V., Nakonechna O.A., Gubina-Vakulyck G.I. Epithelial-to-mesenchymal transition and some parameters of extracellular matrix remodeling in chronic rhinosinusitis with nasal polyps // *HVM Bioflux.* 2018. Vol. 10. №3. P. 128-132.

192. Optimisation of 16S rRNA gut microbiota profiling of extremely low birth weight infants / Alcon-Giner C., Caim S., Mitra S., et al. // *BMC Genomics.* 2017. Vol.18:841. doi:10.1186/s12864-017-4229-x.

193. Oral steroids and doxycycline: two different approaches to treat nasal polyps / Van Zele T., Gevaert P., Holtappels G., Beule A., Wormald P.J., Mayr S., Hens G., Hellings P., Ebbens F.A., Fokkens W., Van Cauwenberge P., Bachert C. // *The Journal of allergy and clinical immunology.* 2010. Vol. 125. P. 1069–1076. e1064.

194. Otto B.A., Wenzel S.E. The role of cytokines in chronic rhinosinusitis with nasal polyps // *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2008, Jun. Vol. 16, N 3. P. 270-274. doi: 10.1097/MOO.0b013e3282fb2885.

195. Oxidative signaling pathway for externalization of plasma membrane phosphatidylserine during apoptosis / Kagan V.E., Fabisiak J.P., Shvedova A.A., Tyurina Y.Y., Tyurin V.A., Schor N.F., Kawai K. // *FEBS Lett*. 2000. Vol. 477(1-2). P. 1-7.

196. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? / Reuter S., Gupta S.C., Chaturvedi M.M., Aggarwal B.B. // *Free Radic Biol Med*. 2010, Dec, 1. Vol. 49, N 11. P. 1603-1616. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006.

197. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis / Sinha K., Das J., Pal P.B., Sil P.C. // *Arch Toxicol*. 2013. Vol. 87, N 7. P. 1157-1180.

198. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: inflammation / Van Crombruggen K., Zhang N., Gevaert P., Tomassen P., Bachert C. // *J Allergy Clin Immunol*. 2011. Vol. 128, N 4. P. 728-732. doi: 10.1016/j.jaci.2011.07.049.

199. Pathways Analysis of Molecular Markers in Chronic Sinusitis with Polyps / Platt M.P., Soler Z., Metson R., Stankovic K.M. // *Otolaryngology-head and neck surgery: official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2011. Vol. 144, N 5. P. 802-808. doi:10.1177/0194599810395091.

200. Pawankar R., Nonaka M. Inflammatory mechanisms and remodeling in chronic rhinosinusitis and nasal polyps // *Curr Allergy Asthma Rep*. 2007, Jun. Vol. 7, N 3. 202-208.

201. Peroxidation and externalization of phosphatidylserine associated with release of cytochrome c from mitochondria / Jiang J., Serinkan B.F., Tyurina Y.Y., Borisenko G.G., Mi Z., Robbins P.D., Schroit A.J., Kagan V.E. // *Free Radic Biol Med*. 2003. Vol. 35, N 7. P. 814-825.

202. Pilot study of DNA methylation in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nasal polyps / Zheng Y.B., Zhao Y., Yue L.Y., Lin P., Liu Y.F., Xian J.M., Zhou G.Y., Wang D.Y. // *Rhinology*. 2015. Vol. 53. P. 345–352.

203. Poniedziałek B., Falfushynska H., Rzymiski P. Flow cytometry as a valuable tool to study cyanobacteria: A mini-review // *Limnological Review* 2017. Vol. 17, N 2. P. 89-95.

204. Poon I.K., Hulett M.D., Parish C.R. Molecular mechanisms of late apoptotic/necrotic cell clearance // *Cell Death Differ*. 2010. Vol. 17, N 3. P. 381-397.

205. Posokhov Ye.O., Tkachenko A.S., Korniyenko Ye.M. Influence of carrageenan (E 407) on the membrane of enterocytes investigated by fluorescent probes // *Вісник проблем біології і медицини*. 2013. Vol. 1, N 98. P. 229 –233.

206. Pradeep A.R., Rao N.S., Bajaj P., Agarwal E. 8-Isoprostane: a lipid peroxidation product in gingival crevicular fluid in healthy, gingivitis and chronic periodontitis subjects // *Arch Oral Biol*. 2013, May. Vol. 58, N 5. P. 500-504. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.01.011.

207. Proinflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines Mediated by NF- κ B Factor as Prognostic Markers in Mammary Tumors / Martins G.R., Gelaleti G.B., Moschetta M.G., Maschio-Signorini L.B., Zuccari DAP de C. // *Mediators of Inflammation*. 2016. Vol. 2016:9512743. doi:10.1155/2016/9512743.

208. Punagi A.Q., Rahardjo S.P. Dynamics of Interleukin-10 Levels in Chronic Rhinosinusitis with/without Allergy // *Indones Biomed J*. 2015. Vol. 7, N 3. P. 163-166.

209. Quantification of selective phosphatidylserine oxidation during apoptosis / Fabisiak J.P., Tyurina Y.Y., Tyurin V.A., Kagan V.E. // *Methods Mol Biol*. 2014. Vol. 1105. P. 603-611.

210. Radiationless deactivation of the excited phototautomer form and molecular structure of ESIPT-compounds / Doroshenko A.O., Posokhov E.A.,

Verezubova A.A., Ptyagina L.M., Skripkina V.T., Shershukov V.M. // Photochem Photobiol Sci. 2002. Vol. 1. P. 92-99. doi: 10.1039/B107255M

211. Reactive oxygen species in chronic rhinosinusitis and secondhand smoke exposure / Fordham M.T., Mulligan J.K., Casey S.E., Mulligan R.M., Wang E.W., Sansoni E.R., Schlosser R.J. // Otolaryngology–Head and Neck Surgery. 2013. Vol. 149, N 4. P. 633 – 638.

212. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury / Mittal M., Siddiqui M.R., Tran K., Reddy S.P., Malik A.B. // Antioxidants & Redox Signaling. 2014. Vol. 20, N 7. P. 1126-1167. doi:10.1089/ars.2012.5149.

213. Regional and systemic cytokine responses to acute inflammation of the vermiform appendix. / Rivera-Chavez F.A., Wheeler H., Lindberg G., Munford R.S., O'Keefe G.E. // Ann Surg. 2003, Mar. Vol. 237, N 3. P. 408-416.

214. Relationship of TLR2, TLR4 and tissue remodeling in chronic rhinosinusitis / Wang X., Zhao C., Ji W., Xu Y., Guo H. // International Journal of Clinical and Experimental Pathology. 2015. Vol. 8, N 2. P. 1199-1212.

215. Rhinosinusitis: Establishing definitions for clinical research and patient care / Meltzer E.O., Hamilos D.L., Hadley J.A., et al. // Otolaryngol Head Neck Surg. 2004. Vol.131, suppl. 6. P. 1–62.

216. Role of bacterial and fungal biofilms in chronic rhinosinusitis / Foreman A., Boase S., Psaltis A., Wormald P.J. // Curr Allergy Asthma Rep. 2012. Vol. 12. P. 127–135.

217. Role of epigenetics in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nasal polyps / Kim J.Y., Kim D.K., Yu M.S., Cha M.J., Yu S.L., Kang J. // Molecular Medicine Reports. 2018. Vol. 17, N 1. P. 1219-1227. doi:10.3892/mmr.2017.8001.

218. Role of fungi in chronic rhinosinusitis through ITS sequencing / Zhao Y.C., Bassiouni A., Tanjararak K., Vreugde S., Wormald P.J., Psaltis A.J. // Laryngoscope. 2018. Vol. 128, N 1. P. 16-22. doi: 10.1002/lary.26702.

219. Role of Interleukin-10 on Nasal Polypogenesis in Patients with Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps / Xu J., Han R., Kim D.W., et al. // Di

YP, ed. PLoS ONE. 2016. Vol. 11, N 9. e0161013. doi:10.1371/journal.pone.0161013.

220. Role of matrix metalloproteinase-9 in transforming growth factor- β 1-induced epithelial–mesenchymal transition in esophageal squamous cell carcinoma / Bai X., Li Y.Y., Zhang H.Y., Wang F., He H.L., Yao J.C., Liu L., Li S.S. // *Onco Targets and therapy*. 2017. Vol. 10. P. 2837-2847. doi:10.2147/OTT.S134813.

221. Role of MCP-1 in tumor necrosis factor- α -induced endothelial dysfunction in type 2 diabetic mice / Yang J., Park Y., Zhang H., et al. // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 2009. Vol. 297, N 4. P. 1208-1216. doi:10.1152/ajpheart.00396.2009.

222. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions / Di Meo S., Reed T.T., Venditti P., Victor V.M. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016. Vol. 2016:1245049. doi:10.1155/2016/1245049.

223. Roles of monocyte chemotactic protein 1 and nuclear factor- κ B in immune response to spinal tuberculosis in a New Zealand white rabbit model / Guo X.H., Bai Z., Qiang B., Bu F.H., Zhao N. // *Braz J Med Biol Res*. 2017, Feb, 20. Vol. 50, N 3. e5625. doi: 10.1590/1414-431X20165625.

224. Rudmik L. Economics of chronic rhinosinusitis // *Curr Allergy Asthma Rep*. 2017. Vol. 17(4):20. doi: 10.1007/s11882-017-0690-5.

225. Satelli A., Li S. Vimentin as a potential molecular target in cancer therapy or vimentin, an overview and its potential as a molecular target for cancer therapy // *Cellular and molecular life sciences: CMLS*. 2011. Vol. 68, N 18. P. 3033-3046. doi:10.1007/s00018-011-0735-1.

226. Secondary ciliary dyskinesia in upper respiratory tract / Bertrand B., Collet S., Eloy P., Rombaux P. // *Acta Otorhinolaryngol Belg*. 2000. Vol. 54 N 3. P. 309-316.

227. Sandler M., Mayerle J., Lerch M.M. Necrosis, apoptosis, necroptosis, pyroptosis: It matters how acinar cells die during pancreatitis //

Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology. 2016. Vol. 2, N 4. P. 407-408.

228. Serum Cytokine Profile in Patients with Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis Infected by *Aspergillus flavus* / Rai G., Ansari M.A., Dar S.A., et al. // *Annals of Laboratory Medicine*. 2018. Vol. 38, N 2. P. 125-131. doi:10.3343/alm.2018.38.2.125.

229. Serum levels of 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, are elevated in patients with systemic sclerosis / Ogawa F., Shimizu K., Muroi E., Hara T., Hasegawa M., Takehara K., Sato S. // *Rheumatology (Oxford)*. 2006. Vol. 45, N 7. P. 815-818.

230. Serum markers of the extracellular matrix remodeling reflect antifibrotic therapy in bile-duct ligated rats / Schierwagen R., Leeming D.J., Klein S., Granzow M., Nielsen M.J., Sauerbruch T., Krag A., Karsdal M.A., Trebicka J. // *Front Physiol*. 2013, Jul, 30. Vol. 4:195. doi: 10.3389/fphys.2013.00195.

231. Shah S.A., Ishinaga H., Takeuchi K. Pathogenesis of eosinophilic chronic rhinosinusitis // *J Inflamm (Lond)*. 2016. Vol. 13:11. doi: 10.1186/s12950-016-0121-8.

232. Shahidi F., Zhong Y. Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion // *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 2010. Vol. 112. P. 930–940.

233. Smith K.A., Orlandi R.R., Rudmik L. Cost of adult chronic rhinosinusitis: A systematic review // *Laryngoscope*. 2015. Vol. 125, N 7. P. 1547-1556. doi: 10.1002/lary.25180.

234. Sokol C.L., Luster A.D. The Chemokine System in Innate Immunity // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2015. Vol. 7, N 5. a016303. doi:10.1101/cshperspect.a016303.

235. Subclassification of chronic rhinosinusitis with nasal polyp based on eosinophil and neutrophil / Ikeda K., Shiozawa A., Ono N., Kusunoki T., Hirotsu M., Homma H., Saitoh T., Murata J. // *Laryngoscope*. 2013. Vol.123. P. 1–9.

236. Suh J.D., Cohen N.A., Palmer J.N. Biofilms in chronic rhinosinusitis // *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010. Vol. 18, N 1. P. 27-31. doi: 10.1097/MOO.0b013e328334f670.

237. Suh J.D., Kennedy D.W. Treatment options for chronic rhinosinusitis // *Proc Am Thorac Soc.* 2011. Vol. 8, N 1. P. 132-140. doi: 10.1513/pats.201003-028RN.

238. Sultanova D.D. The role of immunologic values in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis in children // *European science review.* 2014. №3-4. P.64-66.

239. Synergistic upregulation of metalloproteinase-9 by growth factors and inflammatory cytokines: an absolute requirement for transcription factor NF-kappa B. / Bond, M., Fabunmi, R.P., Baker, A.H., Newby, A.C. // *FEBS Lett.* 1998. Vol. 435, N1. P. 29-34.

240. T2R38 taste receptor polymorphisms underlie susceptibility to upper respiratory infection / Lee R.J., Xiong G., Kofonow, J.M., Chen B., Lysenko A., Jiang P. et al. // *J Clin Invest.* 2012. Vol. 122. P. 4145–4159.

241. Tesch G.H. MCP-1/CCL2: a new diagnostic marker and therapeutic target for progressive renal injury in diabetic nephropathy // *American Journal of Physiology - Renal Physiology.* 2008. Vol. 294, N 4. P. 697-701.

242. TGF-beta signaling and collagen deposition in chronic rhinosinusitis / Van Bruaene N., Derycke L., Perez-Novo C.A., Gevaert P., Holtappels G., De Ruyck N., Cuvelier C., Van Cauwenberge P., Bachert C. // *J Allergy Clin Immunol.* 2009. Vol. 124, N 2. P. 253-259. doi: 10.1016/j.jaci.2009.04.013.

243. Th2 cytokines associated with chronic rhinosinusitis with polyps down-regulate the antimicrobial immune function of human sinonasal epithelial cells / Ramanathan M., Lee W.K., Spannhake E.W., Lane A.P. // *American journal of rhinology.* 2008 Vol. 22, N 2. P. 115-121. doi:10.2500/ajr.2008.22.3136.

244. The anti-inflammatory effects of interleukin-4 are not mediated by suppressor of cytokine signalling-1 (SOCS1) / Woodward E.A., Prêle C.M.,

Nicholson S.E., Kolesnik T.B., Hart P.H. // *Immunology*. 2010. Vol. 131, N 1. P. 118-127. doi:10.1111/j.1365-2567.2010.03281.x

245. The association of oxidative stress and nasal polyposis / Cekin E., Ipcioglu O.M., Erkul B.E., et al. // *J Int Med Res*. 2009. Vol. 37. P. 325–330.

246. The chemokine CX3CL1 (Fractalkine) and its receptor CX3CR1: occurrence and potential role in osteoarthritis / Wojdasiewicz P., Poniatowski Ł.A., Kotela A., Deszczyński J., Kotela I., Szukiewicz D. // *Arch. Immunol. Ther. Exp (Warsz)*. 2014. Vol. 62, 5. P. 395–403.

247. The development of nasal polyp disease involves early nasal mucosal inflammation and remodelling / Meng J., Zhou P., Liu Y., Liu F., Yi X., et al. // *PLOS ONE*. 2013. Vol. 8, N 12. e82373.

248. The direct pro-fibrotic and indirect immune anti-fibrotic balance of blocking the cannabinoid CB2 receptor / Avraham Y., Amer J., Doron S., Abu-Tair L., Mahamid M., Khatib A. A.S, Berry E. M., Safadi R. // *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2012. DOI: 10.1152/ajpgi.00191.2011

249. The effects of sinus bacteria on human ciliated nasal epithelium in vitro / Ferguson J.L., McCaffrey T.V., Kern E.B., et al. // *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1988. Vol. 98. P. 299–304.

250. The fungal microbiome in chronic rhinosinusitis: richness, diversity, postoperative changes and patient outcomes / Cleland E.J., Bassiouni A, Boase S, Dowd S, Vreugde S, Wormald P.J. // *Int Forum Allergy Rhinol*. 2014 Apr. Vol. 4, N 4. P. 259-265. doi: 10.1002/alr.21297.

251. The Human Microbiome and Understanding the 16S rRNA Gene in Translational Nursing Science / Ames N.J., Ranucci A., Moriyama B., Wallen G.R. // *Nursing research*. 2017. Vol. 66 №2. P.184-197. doi:10.1097/NNR.0000000000000212.

252. The microbiome of chronic rhinosinusitis: culture, molecular diagnostics and biofilm detection / Boase S., Foreman A., Cleland E., Tan L.,

Melton-Kreft R., Pant H., Hu F.Z., Ehrlich G.D., Wormald P.J. // BMC infectious diseases. 2013. Vol. 13:210.

253. The pathophysiological role of bacterial biofilms in chronic sinusitis / Długaszewska J., Leszczynska M., Lenkowski M., Tatarska A., Pastusiak T., Szyfter W. // European Archives of Oto-Rhino-Laryngology. 2016. Vol. 273. P. 1989-1994. doi:10.1007/s00405-015-3650-5.

254. The role of airway epithelial cells and innate immune cells in chronic respiratory disease / Holtzman M.J., Byers D.E., Alexander-Brett J., Wang X. // Nature reviews Immunology. 2014. Vol. 14, N 10. P. 686-698. doi:10.1038/nri3739.

255. The role of interleukin-33 in chronic rhinosinusitis / Kim D.K., Jin H.R., Eun K.M., Mo J.H., Cho S.H., Oh S., Cho D., Kim D.W. // Thorax. 2017. Vol. 72, N 7. P. 635-645. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-208772.

256. The role of viruses in the clinical presentation of chronic rhinosinusitis / Rowan N.R., Lee S., Sahu N., Kanaan A., Cox S., Phillips C.D., Wang E.W. // Am J Rhinol Allergy. 2015, Nov-Dec. Vol. 29, N 6. P. 197-200. doi: 10.2500/ajra.2015.29.4242.

257. Therapeutic intervention of inflammatory/immune diseases by inhibition of the fractalkine (CX3CL1)-CX3CR1 pathway / Imai T., Yasuda N. // Inflammation and Regeneration. 2016. Vol. 36, N 9. DOI: 10.1186/s41232-016-0017-2

258. TNF and ROS Crosstalk in Inflammation / Blaser H., Dostert C., Mak T.W., Brenner D. // Trends Cell Biol. 2016. Vol. 26, N 4. P. 249-261. doi:10.1016/j.tcb.2015.12.002.

259. TNF-alpha stimulation of MCP-1 expression is mediated by the Akt/PKB signal transduction pathway in vascular endothelial cells / Murao K., Ohyama T., Imachi H., Ishida T., Cao W.M., Namihira H., Sato M., Wong N.C., Takahara J. // Biochem Biophys Res Commun. 2000, Sep, 24. Vol. 276, N 2. P. 791-796.

260. Transforming growth factor β 1 induces the expression of collagen type I by DNA methylation in cardiac fibroblasts / Pan X., Chen Z., Huang R., Yao Y., Ma G. // *PLoS One*. 2013. Vol. 8, N 4. e60335. doi: 10.1371/journal.pone.0060335.

261. Tumor necrosis factor-alpha and apoptosis signal-regulating kinase 1 control reactive oxygen species release, mitochondrial autophagy, and c-Jun N-terminal kinase/p38 phosphorylation during necrotizing enterocolitis / Baregamian N., Song J., Bailey C.E., Papaconstantinou J., Evers B.M., Chung D.H. // *Oxid Med Cell Longev*. 2009. Vol. 2(5). P. 297-306.

262. Tumor necrosis factor-alpha/interleukin-10 balance in normal and cystic fibrosis children / Shmarina G.V., Pukhalsky A.L., Kokarovtseva S.N., et al. // *Mediators of Inflammation*. 2001. Vol. 10, N 4. P. 191-197.

263. Ueha S., Shand F.H., Matsushima K. Cellular and molecular mechanisms of chronic inflammation-associated organ fibrosis // *Front Immunol*. 2012. Vol. 3:71. doi: 10.3389/fimmu.2012.00071.

264. Van Bruaene N., Bachert C. Tissue remodeling in chronic rhinosinusitis // *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011. Vol. 11, N 1. P. 8-11. doi: 10.1097/ACI.0b013e32834233ef.

265. Van Doren S.R. Matrix metalloproteinase interactions with collagen and elastin // *Matrix Biol*. 2015, May-Jul. Vol. 0. P. 224–231.

266. Vimentin contributes to epithelial-mesenchymal transition cancer cell mechanics by mediating cytoskeletal organization and focal adhesion maturation / Liu C.Y., Lin H.H., Tang M.J., Wang Y.K. // *Oncotarget*. 2015. Vol. 6, N 18. P. 15966-15983.

267. Vimentin is required for lung adenocarcinoma metastasis via heterotypic tumor cell-cancer-associated fibroblast interactions during collective invasion / Richardson A.M., Havel L.S., Koyen A.E., Konen J.M., Shupe J., Wiles W.G., Martin W.D., Grossniklaus H.E., Sica G., Gilbert-Ross M., Marcus A.I. // *Clin Cancer Res*. 2018. Vol. 24, N 2. P. 420-432. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1776.

268. Vitamin D decreases the secretion of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in fibroblasts derived from Taiwanese patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyposis / Wang L.F., Tai C.F., Chien C.Y., Chiang F.Y., Chen J.Y. // *Kaohsiung J Med Sci*. 2015. Vol. 31, N 5. P. 235-240. doi: 10.1016/j.kjms.2015.02.001.

269. Voutsadakis I.A. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) and regulation of EMT factors by steroid nuclear receptors in breast cancer: a review and in silico investigation // *J Clin Med*. 2016. Vol. 5, N 1 :11. doi:10.3390/jcm5010011.

270. Wallach D., Kovalenko A. Keeping inflammation at bay // *eLife*. 2014. Vol. 3. e02583.

271. Wlodkowic D., Skommer J., Darzynkiewicz Z. Flow cytometry-based apoptosis detection // *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ). 2009. Vol. 559: 10. doi: 1007/978-1-60327-017-5_2.

272. Wojdasiewicz P., Poniatowski Ł. A., Szukiewicz D., “The Role of Inflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines in the Pathogenesis of Osteoarthritis” // *Mediators of Inflammation*. 2014. Vol. 2014, Article ID 561459, p.19. doi:10.1155/2014/561459

273. Yoshimura T. The production of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)/CCL2 in tumor microenvironments // *Cytokine*. 2017. Vol. 98. P. 71-78. doi: 10.1016/j.cyto.2017.02.001.

274. Zelová H., Hošek J. TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances // *Inflamm Res*. 2013. Vol. 62, N 7. P. 641-651. doi: 10.1007/s00011-013-0633-0.

275. Zemruski N.C., Stache V., Haefeli W.E., Weiss J. 7-Aminoactinomycin D for apoptosis staining in flow cytometry // *Anal. Biochem*. 2012. Vol. 429, N 1. P. 79-81.

276. Zernotti M.E., Angel Villegas N., Roques Revol M. Evidence of bacterial biofilms in nasal polyposis // *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2010. Vol. 20. P. 380–385.

277. Zhang X.H., Zhang Y.N., Liu Z. MicroRNA in chronic rhinosinusitis and allergic rhinitis // *Curr Allergy Asthma Rep.* 2014. Vol. 14(2):415. doi: 10.1007/s11882-013-0415-3.

ДОДАТОК А
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Наконечная О. А., **Онищенко А. И.**, Горбач Т. В., Ткаченко А. С., Чубукова Т. Н. Содержание некоторых хемокинов в сыворотке крови пациентов с обострением хронического гнойного риносинюита // Проблемы здоровья и экологии. 2017. №2(52). С. 30–33. (Особистий внесок – проаналізував літературу, провів визначення біохімічних показників, брав участь в аналізі і узагальненні одержаних результатів, статистично опрацював, підготував до друку).

2. **Onischenko A. I.**, Nakonechna O. A., Tkachenko A. S., Kalashnik Yu. M. The content of MCP-1 and MMP-9 in blood serum of patients with chronic polypoid rhinosinusitis // The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University Series «MEDICINE». 2017. №33. P. 23–26. (Особистий внесок – проаналізував літературу, визначив біохімічні показники, брав участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистично опрацював, підготував публікацію до друку).

3. **Онищенко А. И.**, Наконечная О. А., Ткаченко А. С. Изменения содержания мелатонина и ИЛ-12 в сыворотке крови больных хроническим полипозным риносинюитом // Буковинський медичний вісник. 2017. Т.21, №2. С. 75–77. (Особистий внесок – проаналізував літературу, провів визначення біохімічних показників, брав участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистично опрацював, підготував до друку).

4. **Онищенко А. И.**, Наконечная О. А., Ткаченко А. С. Информативность определения содержания сывороточного моноцитарного хемоатрактантного белка-1 (MCP-1) при хроническом гнойном риносинюите // Вестник КазНМУ. 2017. №4. С. 134–136. (Особистий внесок – проаналізував літературу, провів визначення біохімічних показників, брав участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистично опрацював, підготував публікацію до друку).

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ А

5. **Оніщенко А. І.** Діагностичне значення вмісту інтерлейкіну-12 у крові хворих на хронічний поліпозний риносинусит // Український журнал медицини, біології та спорту. 2017. № 4(6). С. 98–101.

6. **Онищенко А. И.,** Наконечная О. А., Ткаченко А. С., Корниенко Е. М., Горбач Т. В., Бондаренко В. А., Посохов Е. А., Дорошенко А. О. Исследование мембран эритроцитов при хроническом полипозном риносинусите методом флуоресцентных зондов // Український журнал медицини, біології та спорту. 2018. Т 3, № 1(10). С. 169–173. (Особистий внесок – проаналізував літературу, брав участь у визначенні біохімічних показників, аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистичному опрацюванні, підготував публікацію до друку).

7. **Оніщенко А. І.,** Наконечна О. А., Ткаченко А. С., Корнієнко Є. М., Ткачова Т. М., Єфімова С. Л., Рищенко І. М., Циганков О. В., Посохов Є. О. Дослідження цитоплазматичних мембран клітин епітелію слизової оболонки носа у хворих на хронічний гнійний риносинусит методом флуоресцентних зондів // Український журнал медицини, біології та спорту. 2017. Т 3, № 7(16). С. 135–139. (Особистий внесок – проаналізував літературу, брав участь у визначенні біохімічних показників, аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистичному опрацюванні, підготував публікацію до друку).

8. **Оніщенко А. І.,** Наконечна О. А., Ткаченко А. С., Калашник Ю. М., Корнієнко Є. М., Стеценко С. О., Посохов Є. О., Дорошенко А. О. Дослідження еритроцитів при хронічному гнійному риносинуситі у стадії загострення методом флуоресцентних зондів // Буковинський медичний вісник. 2018. Т. 22, № 1(85). С. 79–85. (Особистий внесок – проаналізував літературу, провів визначення біохімічних показників, брав участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, статистично опрацював, підготував публікацію до друку).

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ А

9. **Онищенко А. И.** Окислительный стресс и матриксная металлопротеиназа-9 при обострении хронического гнойного риносинусита // Український журнал медицини, біології та спорту. 2018. Т. 3, № 6(15). С. 129–133.

10. **Onishchenko A. I.,** Luyr A. V., Tkachenko A. S., Gorbach T. V., Nakonechna O. A., Gubina-Vakulyck G. I. Epithelial-to-mesenchymal transition and some parameters of extracellular matrix remodeling in chronic rhinosinusitis with nasal polyps // HVM Bioflux. 2018. Vol. 10. №3. P. 128–132. (Особистий внесок – проаналізував літературу, брав участь у проведенні морфологічного дослідження, у визначенні біохімічних показників, провів аналіз результатів, статистично опрацював, підготував публікацію до друку).

11. Наконечная О. А., **Онищенко А. И.** Содержание интерлейкина-8 и матриксной металлопротеиназы-9 в крови больных с обострением хронического гнойного и полипозного риносинусита // Актуальные проблемы медицины : сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 26-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета, 3–4 ноября 2016 г., Гомель. 2016. С. 536–539. (Виконав біохімічні дослідження, статистичний аналіз та узагальнення матеріалу, написання тез).

12. Набатян К. А., **Оніщенко А. І.,** Нечипорук І. А., Ткаченко А. С. Вміст фракталкіна в сироватці крові хворих з загостренням хронічного гнійного риносинусита // Хист. 2017. Вип. 19. С. 55. (Виконав біохімічні дослідження, статистичний аналіз, написання тез).

13. **Оніщенко А. І.** Активність матриксної металопротеїнази-9 у хворих з загостренням хронічного гнійного риносинусита // Актуальні проблеми клінічної та фундаментальної медицини : збірник науково-практичної конференції, 14 квітня 2017 р., Харків. 2017. С. 154–155.

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ А

14. **Онищенко А. И.** Содержание фракталина и ИЛ-8 у больных хроническим гнойным риносинуситом // Актуальні проблеми сучасної хімії: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих науковців, 20–22 квітня 2017р., Миколаїв. 2017. С. 54–55.

15. **Онищенко А. И.** Содержание матриксной металлопротеиназы-9 у больных хроническим полипозным риносинуситом // Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини: тези доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю з дня народження І. Г. Герцена, 27–28 квітня 2017р., Одеса. 2017. С. 36.

16. **Онищенко А. И.,** Калашник Ю. М. Содержание интелейкина-12 в сыворотке крови больных хроническим полипозным риносинуситом // Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии : сборник материалов III Конференции молодых ученых биохимиков и молекулярных биологов с международным участием, 11–12 мая 2017 г., Гродно. 2017. С. 95–96. (Виконав біохімічні дослідження, статистичний аналіз та узагальнення матеріалу, написання тез).

17. **Оніщенко А. І.,** Набатян К. А., Нечипорук І. А. Зміни сироваткової ММР-9 у хворих на хронічний поліпозний риносинусит // Актуальні проблеми експериментальної і клінічної біохімії : матеріали VI Міжвузівської навчально-практичної конференції з міжнародною участю, 22 травня 2017р., Харків. 2017. С. 17–18. (Виконав біохімічні дослідження, статистичний аналіз, написання тез).

18. **Оніщенко А. І.,** Ткаченко А. С. Визначення факторів, що впливають на диференціювання незрілих CD4+ клітин у хворих на хронічний поліпозний риносинусит // Здобутки клінічної та експериментальної медицини: Підсумкова LX науково-практична конференція, 17 червня 2017р., Тернопіль. 2017. С. 204–205. (Виконав біохімічні дослідження, статистичний аналіз, написання тез).

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ А

19. **Onishchenko A.** Diagnostic significance of serum interleukin-12 determination in patients with exacerbation of chronic purulent rhinosinusitis // 8th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry, 18–20 september 2017. Lublin. 2017. P. 68.

20. Наконечна О. А., **Онiщенко А. І.**, Ткаченко А. С. Діагностичне значення інтерлейкіну-12 при загостренні хронічного гнійного риносинуситу // Актуальні проблеми сучасної біохімії та клінічної біології : матеріали IV Міжнародної наукової конференції, 5–6 жовтня 2017 р., Дніпро. 2017. С. 60–61. (Брав участь у виконанні біохімічних досліджень, статистичному аналізі та узагальненні матеріалу, написанні тез).

21. **Онiщенко А. І.** Содержание CX3CL1 в сыворотке крови больных с хроническим полипозным риносинуситом // Актуальні питання клінічної медицини : матеріали XI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, 27 жовтня 2017р., Запоріжжя. 2017. С. 50–51.

22. **Онiщенко А. І.** Использование моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1) в качестве диагностического маркера хронического полипозного риносинусита // Актуальные проблемы медицины: сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 27-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета, 2–3 ноября 2017г., Гомель. 2018. С. 582–583.

23. **Онiщенко А. І.**, Посохов Є. О., Ткаченко А. С., Корнієнко Є. М. Оцінка стану ліпідного бішару мембран еритроцитів при хронічному поліпозному риносинуситі: дослідження за допомогою флуоресцентного зонда RH7 // Медицина третього тисячоліття : збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів, 22–24 січня 2018 р., Харків. 2018. С. 51. (Брав участь у виконанні біохімічних досліджень, статистичному аналізі та узагальненні матеріалу, написанні тез).

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ А

24. **Онщенко А. І.**, Ткаченко А. С., Моїсєєнко Л. В., Іншина Є. О. Вміст 8-ізопростану у сироватці крові при хронічному гнійному риносинуситі // Актуальні проблеми сучасної хімії: Матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих науковців, 24–25 травня 2018р., Миколаїв. 2018. С. 75–76. (Виконав біохімічні дослідження, статистичний аналіз, написання тез).

25. **Онщенко А. І.** Оцінка відсотка ранньоапоптотичних, пізньоапоптотичних / некротичних та мертвих некротичних лейкоцитів у хворих на хронічний поліпозний риносинусит // Актуальні питання лабораторної медицини: Матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів, 20–21 листопада 2018р., Харків. 2018. С. 67.

ДОДАТОК Б
АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Республіканська науково-практична конференція «Актуальные проблемы медицины» та 26-й Підсумкова наукова сесія «Гомельского государственного медицинского университета» (м. Гомель, Республіка Білорусь, 3–4 листопада 2016 р., форма участі – усна доповідь).
2. IV Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів і молодих вчених «ВІМСО» (м. Чернівці, Україна, 05-07 квітня 2017р., форма участі – усна доповідь).
3. Науково-практична конференція «Актуальні проблеми клінічної та фундаментальної медицини» (м. Харків, Україна, 13-14 квітня 2017р., форма участі – публікація тез).
4. Всеукраїнська науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної хімії» (м. Миколаїв, Україна, 20-22 квітня 2017р., форма участі – усна доповідь).
5. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 100-річчю з дня народження І. Г. Герцена «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини» (м. Одеса, Україна, 27-28 квітня 2017р., форма участі – усна доповідь).
6. III Конференція молодих вчених біохіміків і молекулярних біологів з міжнародною участю «Сучасні проблеми біохімії та молекулярної біології» (м. Гродно, Республіка Білорусь, 11-12 травня 2017р., форма участі – публікація тез).
7. Міжвузівська науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії» (м. Харків, Україна, 22 травня 2017 р., форма участі – публікація тез).
8. Підсумкова X науково-практична конференція «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (м. Тернопіль, Україна, 14 червня 2017 р., форма участі – публікація тез).

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Б

9. 8-ма Конференція з експериментальної і клінічної біохімії (м. Люблін, Польща, 18-20 вересня 2017р., форма участі – постерна доповідь).

10. IV Міжнародна наукова конференція «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клінічної біології» (м. Дніпро, Україна, 5–6 жовтня 2017р., форма участі – усна доповідь).

11. XI Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених «Актуальні питання клінічної медицини» (м. Запоріжжя, Україна, 27 жовтня 2017р., форма участі – публікація тез).

12. Республіканська науково-практична конференція «Актуальные проблемы медицины» та 27-й підсумковій науковій сесії «Гомельского государственного медицинского университета (м. Гомель, Республіка Білорусь, 2–3 листопада 2017р., форма участі – публікація тез).

13. Міжвузівська конференція молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» (м. Харків, Україна, 22-24 січня 2018 р., форма участі – публікація тез).

14. Всеукраїнська науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної хімії» (м. Миколаїв, Україна, 24-25 травня 2018р., форма участі – публікація тез).

15. Науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів «Актуальні питання лабораторної медицини» (м. Харків, Україна, 20-21 листопада 2018р., форма участі – публікація тез).