

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУЧНО-КЛИНИЧЕСКИЙ
ЦЕНТР ОТОРИНОЛАРИНГОЛОГИИ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

С4.200.4 03357 -

На правах рукописи

Галкина Татьяна Анатольевна

**ЦИТОКИНОТЕРАПИЯ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ И
ХРОНИЧЕСКИМИ СРЕДНИМИ ОТИТАМИ**

14.00.04. – болезни уха, горла и носа

**Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Н.А. Дайхес**

**Научный консультант:
доктор медицинских наук,
профессор Л.В. Ганковская**

МОСКВА - 2004

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	
1.1. Краткие сведения об этиопатогенезе, клинике и принципах лечения острых и хронических средних отитов.	12
1.2. Роль иммунных механизмов в развитии воспалительных заболеваний среднего уха.	18
1.3. Иммунокорректирующая терапия в лечении воспалительных заболеваний ЛОР-органов.	30
ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Общая характеристика больных	43
2.2. Клинические методы исследования.	47
2.3. Определение продукции активных форм кислорода полиморфноядерными лейкоцитами методом люминол-зависимой хемилюминесценции.	52
2.4. Определение активности лизосомальных ферментов (катепсина G и β -глюкозидазы) в полиморфноядерных лейкоцитах.	54
2.5. Определение содержания цитокинов в плазме крови и в культурах моноцитов методом иммуноферментного анализа.	57
2.6. Статистическая обработка результатов.	60
ГЛАВА 3. ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СУПЕРЛИМФА В ЛЕЧЕНИИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ	

ЗАБОЛЕВАНИЙ СРЕДНЕГО УХА .

3.1. Клиническая характеристика больных ОСО и ХСО.	61
3.2. Схемы лечения.	64
3.3. Обоснование схемы лечения и оценка терапевтической эффективности применения Суперлимфа в комплексном лечении ОСО.	66
3.4. Клиническая эффективность монотерапии препаратом Суперлимф больных ХСО.	79

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ РЯДА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ С ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СРЕДНЕГО УХА НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ ЦИТОКИНАМИ.

4.1. Изучение функциональной активности фагоцитарных клеток и цитокинов в плазме крови у больных острым (ОСО) и хроническим (ХСО) средним отитом.	85
4.1.1. Исследование выработки активных форм кислорода лейкоцитами больных ОСО и ХСО.	86
4.1.2. Изменение активности лизосомальных ферментов (катепсина G и β -глюкозидазы) в полиморфноядерных лейкоцитах больных ОСО и ХСО.	90
4.1.3. Изучение выработки интерлейкина-1 моноцитами периферической крови больных ОСО.	95
4.1.4. Определение интерлейкина- 1β и интерферона- γ в плазме крови больных ОСО и ХСО.	97
4.2. Влияние топической цитокинотерапии на функциональную активность полиморфноядерных лейкоцитов и уровень цитокинов в плазме крови у больных ОСО.	100
	89

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	105
ВЫВОДЫ.	114
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	115
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	116

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АП	-	Антимикробные пептиды
АФК	-	Активные формы кислорода;
ВДП	-	Верхние дыхательные пути;
ЕК	-	Естественные киллеры;
ИЛ	-	Интерлейкины;
ИС	-	Индекс стимуляции;
ИФН	-	Интерфероны;
КАТ		Каталаза;
ЛПС	-	Липополисахарид;
ЛХЛ	-	Люминол-зависимая хемилюминисценция;
МИФ	-	Миграцию ингибирующий фактор;
Мо	-	Моноцит;
МПО	-	Миелопероксидаза;
ОСО	-	Острый средний отит;
ОФД	-	Ортофенилендиамин;
ПЯЛ	-	Полиморфноядерный лейкоцит;
СОД	-	Супероксиддисмутаза
ТФР	-	Трансформирующий фактор роста;
ТХУ	-	Трихлоруксусная кислота;
ФНО	-	Факторы некроза опухолей;
ХЛ	-	Хемилюминесценция;
ХСО	-	Хронический средний отит;
Ig	-	Иммуноглобулин;
Th	-	T-хелперы.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Воспалительные заболевания ЛОР-органов представляют актуальную проблему современной медицины. Это связано с их широкой распространенностью, тенденцией к рецидивирующему и хроническому течению, недостаточной эффективностью существующих методов лечения. Среди всех заболеваний уха средние отиты (ОСО и ХСО) составляют, по данным разных авторов, от 30% до 50% [4, 5, 36].

Несмотря на достаточно большое количество работ, посвященных вопросам терапии воспалительных заболеваний среднего уха, выбор тактики лечения остается актуальной научной и практической задачей. Широкое внедрение в клиническую практику высокоэффективных антибактериальных препаратов привело к возникновению новых устойчивых штаммов бактериальной флоры, резистентных к антибиотикам, значительно возросла роль условно-патогенной микробной флоры и вирусов в развитии воспалительных заболеваний среднего уха (5, 36, 93).

В работах последних лет показано, что важное значение в развитии ОСО и ХСО имеет состояние как системных, так и локальных иммунных механизмов (2, 5, 7).

По данным ряда исследователей при острых и хронических средних отитах наиболее выраженные изменения наблюдаются в системе естественного иммунитета: страдает функциональная активность моноцитов / макрофагов, нейтрофилов, происходит

изменение баланса про- и противовоспалительных цитокинов (87, 89, 94). Именно цитокины определяют миграцию клеток, участвующих в воспалении, их функциональную активность, продолжительность жизни (16, 31).

Поэтому, несмотря на большой арсенал имеющихся лекарственных средств, современных хирургических и физиотерапевтических методов, включение иммунокоррекции в комплексную терапию острых и хронических средних отитов представляется патогенетически обоснованным.

Перспективным направлением в этой области является топическая цитокиноterapia.

Накоплен успешный опыт применения цитокинов в комплексном лечении больных острыми и хроническими синуситами (54, 55, 66), тонзиллитами (54, 55), фарингитами (53). В ряде случаев весьма эффективной оказалась локальная монотерапия цитокинами больных острым верхнечелюстным синуситом (29, 66).

Однако ни в отечественной, ни в зарубежной литературе мы не обнаружили работ по локальному применению цитокинов в лечении острых и хронических средних отитов. Не разработаны схемы применения цитокинов в комплексном лечении ОСО и ХСО.

Учитывая вышеизложенное, исследование функциональной активности фагоцитарных клеток и ряда цитокинов, определяющих течение и исход воспалительного процесса в полости среднего уха, позволит дать клинико-иммунологическое обоснование и разработать рекомендации и схемы проведения цитокинотерапии у больных ОСО и ХСО.

Цель исследования:

клинико-иммунологическое обоснование и оценка терапевтической эффективности цитокинотерапии препаратом Суперлимф у больных острыми и хроническими средними отитами.

Задачи исследования:

1. Провести комплексное изучение функциональной активности фагоцитов (выработка кислородных радикалов, ферментов лизосом) и содержания цитокинов в плазме крови больных ОСО и ХСО.

2. Разработать схему проведения локальной цитокинотерапии препаратом Суперлимф у больных острыми средними отитами и оценить ее терапевтическую эффективность.

3. Разработать схему монотерапии препаратом Суперлимф у больных хроническими средними отитами и оценить ее терапевтическую эффективность.

4. Исследовать влияние топической цитокинотерапии на динамику показателей системы фагоцитов и уровень цитокинов в плазме крови.

Научная новизна работы

Впервые получены новые данные об изменении кислород-

зависимых (выработка активных кислородных радикалов) и кислород-независимых (активность катепсина G и β -глюкозидазы) механизмов лейкоцитов у больных ОСО и ХСО.

Впервые исследован уровень ИЛ-1 β и ИФН- γ в плазме крови больных с воспалительными процессами в среднем ухе в динамике при использовании локальной цитокинотерапии.

Впервые разработан и внедрен в клиническую практику метод локальной цитокинотерапии путем введения препарата Суперлимф в полость среднего уха у больных ОСО и ХСО.

Впервые проведена оценка клинической эффективности локальной цитокинотерапии в комплексном лечении больных острыми средними отитами.

Впервые разработана схема монотерапии препаратом Суперлимф больных хроническим средним отитом (мезотимпанитом), исключающая применение антибиотиков.

Теоретический вклад

Установлено, что при ОСО и ХСО происходит изменение функциональной активности клеток фагоцитарной системы в виде увеличения активности лизосомальных ферментов (катепсина G и β -глюкозидазы), повышения синтеза ИЛ-1 β моноцитами, увеличения спонтанной продукции кислородных радикалов.

Выявлено, что в плазме крови больных ОСО и ХСО значительно повышены концентрации интерлейкина-1 β и интерферона- γ .

Доказано, что топическая цитокиноterapia препаратом Суперлимф приводит к восстановлению функциональной активности фагоцитов и снижению уровня ИЛ-1 β и ИФН- γ в плазме крови.

Практическая значимость

Разработана схема локального применения препарата Суперлимф у больных ОСО. В результате проведенных исследований показано, что локальное применение препарата Суперлимф эффективно в комплексном лечении острых средних отитов, что подтверждается ускорением купирования воспалительного процесса в полости среднего уха, стимуляции процессов репарации барабанной перепонки и более быстрого восстановления слуха.

Разработана схема монотерапии препаратом Суперлимф у больных ХСО, эффективность которой подтверждена более быстрым купированием обострения воспалительного процесса в полости среднего уха и более длительной ремиссией.

Определены показания для применения препарата Суперлимф у больных ОСО и ХСО.

Внедрение в практику. Метод топической цитокинотерапии с использованием препарата Суперлимф внедрен в лечение больных острыми и хроническими средними отитами в ЛОР-отделениях ГKB №67 и Медсанчасти №12 ФГУ «Медбиоэкстрем» при МЗ РФ г. Москвы.

Апробация работы. Основные положения работы доложены и обсуждены на 4 конгрессе РААКИ «Современные проблемы

аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии» (май 2001г., Москва), научной конференции ГУ НКЦО МЗ РФ и МСЧ №12 ФГУ «Медбиоэкстрем» при МЗ РФ (май 2003 г., Москва). Аprobация диссертации состоялась на научной конференции ГУ НКЦО МЗ РФ от 23.06.2003г.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 4 печатные работы в центральной печати.

Объем работы. Текст диссертации изложен на 129 страницах, состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 76 отечественных и 30 зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 9 таблицами и 16 рисунками.

Общие положения, выносимые на защиту

1. Изменение функциональной активности фагоцитов и содержания цитокинов в плазме крови у больных ОСО и ХСО.
2. Влияние топической цитокиноtherпии на динамику показателей системы фагоцитов и уровень цитокинов в плазме крови у больных ОСО и ХСО.
3. Методика применения препарата Суперлимф у больных ОСО и ХСО.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Краткие сведения об этиопатогенезе, клинике и принципах лечения острых и хронических средних отитов

Воспалительные заболевания среднего уха представляют собой актуальную проблему современной оториноларингологии. Статистические данные свидетельствуют о широкой распространенности острых и хронических средних отитов среди людей разного возраста.

Частота встречаемости острых средних отитов среди населения составляет около 2,5%. Среди всех заболеваний уха средние отиты составляют, по данным разных авторов, от 30% (Солдатов И.Б., 1997) до 50% (Крюков А.И., 2002). В одних случаях течение острого среднего отита может быть относительно легкое, в других – тяжелое и затяжное с переходом в хроническую форму.

Острое воспаление среднего уха - общее заболевание организма, местным проявлением которого является воспалительный инфекционный процесс в барабанной полости, слуховой трубе и сосцевидном отростке. Обычно употребляемые термины - неперфоративный (катаральный) средний отит и перфоративный (гнойный) средний отит - отражают не отдельные формы острого среднего отита, а стадии этого заболевания. Однако с практической точки зрения подобное разделение острого среднего отита очень важно, так как его лечение имеет свои особенности на различных стадиях (50).

Хроническое гнойное воспаление среднего уха

характеризуется периодическим или постоянным гноетечением из уха, стойкой перфорацией барабанной перепонки и снижением слуха. По клиническому течению, прогнозу и лечению хронические гнойные отиты подразделяют на:

1) отиты с центральной перфорацией барабанной перепонки, протекающие с преимущественным поражением слизистой оболочки среднего и нижнего отделов барабанной полости – *мезотимпаниты*,

2) отиты с краевой перфорацией барабанной перепонки, с поражением как слизистой оболочки, так и костных структур барабанной полости, преимущественно в аттике – *эпитимпаниты*; эта форма наиболее часто осложняется холестеатомой и нередко вызывает тяжелые общие осложнения.

Непосредственной причиной среднего отита является проникшая в барабанную полость инфекция на фоне сниженной общей и местной реактивности организма; специфический возбудитель не установлен. Преобладавшая ранее в этиологии острых и хронических средних отитов стрептококковая флора, высокочувствительная к применявшимся в 50-х годах прошлого века антибиотикам, уступила место новым возбудителям: при затяжном, рецидивирующем течении воспалительного процесса или хроническом среднем отите преобладает стафилококковая флора, сочетающаяся с другими микроорганизмами – синегнойной палочкой, протеем и различными видами кишечных палочек (Драчнева И.К. и соавт., 1981; Lorentzen P., 1980). При острых средних отитах на основании результатов бактериологического исследования гнойного отделяемого (Крюков А.И., Туровский А.Б., 2002) у больных установлено 3

наиболее часто встречающихся микроорганизма: это *S. pneumoniae* (33,5%), *H. Influenzae* (32,3%), *M. Catarrhalis* (32,2%).

При эптитимпаните обнаруживают анаэробы изолированно или в ассоциации с аэробами, при мезотимпаните – как правило, лишь аэробы.

В обычных условиях в полостях среднего уха патогенной микрофлоры нет, что объясняется барьерной функцией ворсинок мерцательного эпителия слуховой трубы, постояннодвигающихся по направлению к носоглотке. Поэтому воспаление среднего уха может быть следствием острых и хронических процессов носа, околоносовых пазух и глотки. Существенную роль в этиологии острых и хронических средних отитов могут играть такие заболевания, как гипертрофический ринит, аденоиды, полипы носа, гипертрофический фарингит и другие. Так же важное значение имеет снижение сопротивляемости организма, наблюдающееся при общих хронических заболеваниях (сахарный диабет, заболевания крови и другие).

Острый средний отит является заболеванием с достаточно четко выраженной стадийностью течения. Большинство авторов выделяют 3 стадии (фазы): катаральную, гнойную и репаративную. Однако более целесообразно разграничить пять стадий острого воспаления среднего уха, так как выраженная стадийность ОСО предполагает индивидуальный подход к лечению заболевания на каждой из этих стадий (А.И. Крюков).

- *Острый евстахеит.* Эта стадия характеризуется прежде всего нарушением функции слуховой трубы, что, по сути, и вызывает дальнейшее развитие патологического процесса. Тубарная дисфункция приводит к снижению давления в

барабанной и других полостях среднего уха. При этом пациент отмечает шум в ухе, ощущение заложенности, аутофонию. При отоскопии наблюдается втяжение барабанной перепонки, укорочение светового конуса. Под действием отрицательного давления возникает полнокровие сосудов барабанной полости. Барабанная полость заполняется серозным экссудатом – развивается асептическое воспаление.

- *Острое катаральное воспаление.* Больной начинает жаловаться на боль в ухе, возникающую из-за сдавления болевых рецепторов экссудатом. Ухудшается общее состояние пациента, появляется субфебрилитет. При отоскопии барабанная перепонка гиперемизирована и утолщена, опознавательные знаки определяются с трудом или не определяются вовсе.

- *Острое гнойное воспаление.* Эта стадия обусловлена инфицированием среднего уха через слуховую трубу. В экссудате барабанной и других полостей среднего уха происходит накопление форменных элементов, прежде всего нейтрофилов. Боль в ухе резко усиливается, нарастают симптомы интоксикации, ухудшается общее состояние, температура достигает фебрильных цифр, отмечаются воспалительные изменения в клиническом анализе крови. Аудиометрия и камертональные исследования, как и в предыдущей стадии, свидетельствуют о выраженной кондуктивной тугоухости; в случае токсического воздействия на лабиринт присоединяется нейросенсорный компонент. Отоскопически выявляется выраженная гиперемия барабанной перепонки, опознавательные знаки не определяются, имеет место выбухание барабанной перепонки. За счет давления гнойного секрета, его высокой протеолитической активности в барабанной перепонке

появляется перфорация, через которую осуществляется дренирование гноя в наружный слуховой проход.

- *Постперфоративная стадия.* Боль в ухе стихает, иногда резко. Общее состояние больного постепенно нормализуется. Отоскопически определяется перфорация барабанной перепонки, из которой поступает гнойное отделяемое. В случае благоприятного течения процесс вскоре переходит в последнюю фазу.

- *Репаративная стадия.* На этой стадии воспаление в среднем ухе купируется, перфорация закрывается рубцом. При этом существует определенная опасность рубцевания барабанной полости за счет организации остатков вязкого секрета.

При неблагоприятных условиях процесс в ухе может принять затяжной, вялый характер и перейти в хроническую форму. Среди хронических гнойных воспалений среднего уха мезотимпанит встречается в 55% случаев.

Картина при этом заболевании зависит от стадии воспалительного процесса – ремиссии или обострения.

В *стадии ремиссии* четко выявляется перфорация в натянутой части барабанной перепонки, которая, как правило, занимает некраевое или центральное положение. Края перфорации истонченные или каллезные – в виде утолщенного рубца. Сохранившаяся часть барабанной перепонки обычного цвета. Слизистая оболочка медиальной стенки барабанной полости, особенно в области мыса, бледная и влажная.

В *стадии обострения* гнойного мезотимпанита в наружном слуховом проходе обычно много гнойной слизи без запаха.

Сохранившаяся часть барабанной перепонки утолщена и гиперемирована, слизистая оболочка барабанной полости может быть гиперемирована, отечна, гиперплазирована.

Мезотимпанит характеризуется относительно благоприятным течением. Основные жалобы больных – гноеотечение из уха и понижение слуха. Отделяемое слизисто-гноетечного характера, без запаха. При обострении может появляться небольшая боль в ухе, повышаться температура тела. Слух понижен по типу поражения звукопроводящего аппарата (50).

Лечение. Поскольку лечение эптитимпанитов в большинстве случаев хирургическое, нами будут рассмотрены современные методы консервативной терапии острых средних отитов и мезотимпанитов. Осуществляется общее и местное лечение. Общее – предусматривает проведение противовоспалительной, гипосенсибилизирующей, симптоматической терапии. Противовоспалительное лечение состоит в применении различных групп антибиотиков. Местное лечение направлено на обеспечение аэрации и оттока экссудата из полостей среднего уха.

1.2. Роль иммунных механизмов в развитии воспалительных заболеваний среднего уха

В течении острых и хронических средних отитов важное значение имеет состояние как системных, так и локальных иммунных механизмов, нарушение которых является одной из главных причин развития воспаления в среднем ухе, тяжести его течения и хронизации процесса.

В последние годы расширились представления о роли лимфатического глоточного кольца в обеспечении иммунологической защиты. В работах ряда авторов (1, 3, 6, 7) показано, что лимфоидные образования глоточного кольца отвечают за заселение слизистых оболочек носа, верхнечелюстных пазух, полости среднего уха иммунокомпетентными клетками, которые несут информацию об антигенном составе окружающей среды. Характер иммунного ответа структур лимфатического глоточного кольца с автономной или генерализованной реакцией позволяет не только обеспечить надежную местную защиту слизистой ВДП от возбудителей, но и формировать системный иммунный ответ (5, 40).

Дыхательные пути обладают мощными естественными (врожденными) и приобретенными механизмами защиты (1, 5, 81, 94).

Важная роль в предупреждении развития воспалительных заболеваний среднего уха принадлежит локальным иммунным механизмам на уровне слизистой (7, 38, 39, 77).

С позиций современной иммунологии местная противoinфекционная резистентность обеспечивается сложным комплексом защитных приспособлений, включающих

особенности морфофункционального строения слизистых оболочек, фагоцитирующие клетки, гуморальные микробицидные факторы (3, 27, 33, 58).

В обеспечении иммунной защиты слизистой ВДП принимают участие *гуморальные* (иммуноглобулины, цитокины, лизоцим, лактоферин, катионные пептиды, комплемент и др.) и *клеточные* (лимфоциты, гранулоциты, макрофаги и др.) механизмы (1, 70, 90).

В течение последнего десятилетия активно изучаются биология, структура, функции нового класса бактерицидных молекул - *катионных пептидов*, обладающих противомикробным действием и секретлируемых нейтрофилами и эпителиальными клетками слизистых (96, 97, 105). Эти пептиды способствуют поддержанию стерильности слизистой ВДП. Антимикробные пептиды (АП) принадлежат к двум семействам: дефензинов и кателицидинов. Эти молекулы мультифункциональны и обладают широким спектром противомикробной активности: подавляют рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов, некоторых вирусов. Их по праву называют эндогенными антибиотиками. Более того, эти антимикробные пептиды участвуют в реализации многих механизмов врожденного и адаптивного иммунитета слизистых организма-хозяина к различным микроорганизмам (105).

При ряде заболеваний выработка АП в эпителии супрессируется в связи с нарушением течения воспалительного процесса и баланса цитокинов.

АП экспрессируются в слизистой полости рта, миндалин, гайморовых пазух, полости среднего уха и других покровных

тканях. Экспрессия антимикробных пептидов заметно стимулируется в ответ на появление бактерий или противовоспалительных цитокинов (106). Именно этим пептидам отводится ведущая роль в осуществлении противомикробной защиты в барьерных тканях (27, 44). Доказательством этому служит высокая концентрация антимикробных пептидов в нейтрофилах, макрофагах, эозинофилах и в покровном эпителии. При инфекционных осложнениях, хронических воспалительных процессах наблюдается приобретенный дефицит содержания этих катионных пептидов (105, 106).

В настоящей работе проведено изучение активности катионного белка катепсина G в лейкоцитах больных ОСО.

Среди гуморальных факторов иммунной системы слизистой ЛОР-органов одно из ведущих мест занимают *иммуноглобулины*, содержащиеся в секретах (в различных концентрациях) и обладающие специфическим действием против микроорганизмов.

Ig A является наиболее важным иммуноглобулином, в основном он продуцируется плазматическими клетками системы слизистых оболочек. Основные функции секреторного Ig A сводятся к нейтрализации токсинов и вирусов, нарушению адгезии бактерий к эпителиальным клеткам (3, 49, 57).

Установлено, что ряд микроорганизмов, таких как *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitis* вырабатывают специфические протеазы, расщепляющие Ig A на неактивные фрагменты; некоторые штаммы (*Moraxella catarallis*) способствуют синтезу Ig A (102).

Имеются многочисленные сообщения о важном значении Ig A в защите слизистых при хронических отитах, синуситах,

бронхитах (1, 2, 5, 11). Хронический воспалительный процесс ЛОР-органов, как правило, сопровождается снижением концентрации Ig A (2, 5, 69). У 30 % детей со склонностью к гнойным заболеваниям уха, околоносовых пазух, ангинам, определяют селективный дефицит Ig A в секретах уха, околоносовых пазух, глотки (11). Это является одним из показаний для проведения у этих пациентов заместительной (пассивной) иммунотерапии препаратами плазмы, иммуноглобулинов.

При хроническом воспалительном процессе слизистых оболочек ВДП и уха (ринитах, синуситах, отитах) наблюдается стойкое снижение Ig G (2). При острых процессах уровень Ig G, определяемый в секретах и смывах, может как повышаться, так и в ряде случаев понижаться (55, 82). Для элиминации бактерий иммуноглобулины G имеют целый ряд приспособительных реакций (нейтрализации, опсонизации, активации комплемента, антитело-зависимой цитотоксичности) (49).

Исследования последних лет показали, что в развитии воспалительных заболеваний существенную роль играют фагоцитарные клетки (31, 32, 58). Нейтрофилы, моноциты, макрофаги ответственны за естественную (врожденную) резистентность организма. Это определяется их способностью к поглощению и нейтрализации микроорганизмов. На рис. 1 представлена схема функций фагоцитов в развитии воспаления и иммунного ответа (А. Ройт «Иммунология», 2000).

Полиморфноядерные лейкоциты (ПЯЛ) мигрируют из кровотока в ткани и проникают до эпителиального слоя слизистой. Выход лейкоцитов из сосудов и последующая трансэндотелиальная миграция осуществляется за счет



Рис.1 Центральная роль фагоцитов в воспалении и иммунном ответе.

адгезивных взаимодействий (91). Массивная нейтрофильная инфильтрация составляет важнейший элемент острой воспалительной реакции – одного из неспецифических механизмов защиты слизистых ВДП и, в то же время, одного из проявлений их патологии (31, 41, 80) При острых синуситах, отитах количество нейтрофилов в смывах из очага воспаления коррелирует со степенью активности процесса (1, 55).

Функциональная активность фагоцитов во многом определяет течение и исход воспалительного процесса, в том числе и при ОСО и ХСО (88). Нарушение фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов выявлено у больных с рецидивирующими ринитами, острыми и хроническими тонзиллитами, синуситами (28, 53, 73).

Известно, что механизмы антимикробной активности фагоцитов осуществляется *двумя путями*:

- первый – *кислород-независимый механизм*, обусловленный действием на бактериальную клетку лизосомальных ферментов: лизоцима, лактоферина, катионных белков, так называемых противомикробных пептидов (43, 49);

- основой второго, *кислород-зависимого механизма*, ответственного за деструкцию бактерий, является способность фагоцитов продуцировать свободные радикалы – *активные формы кислорода (АФК)* (22, 31, 37). Кислородные радикалы являются основными бактерицидными агентами фагоцитов. Однако, если свободные радикалы образуются в течение длительного времени, то в большом количестве они могут начать цепь нежелательных реакций, приводящих к повреждению собственных тканей и органов (49, 75, 84, 85).

При воспалительных заболеваниях ЛОР-органов (острый синусит, фарингит, тонзиллит) наблюдается повышение внеклеточного выброса активных радикалов (13, 66, 72). Это объясняется быстрой внеклеточной инактивацией бактерий. Для предотвращения опосредованной свободными радикалами деструкции самих фагоцитов и поврежденных воспалительным процессом тканей, происходит активация антиоксидантных систем клеток и тканей (каталазы, супероксиддисмутазы) (8, 64). Однако, при тяжелых гнойно-воспалительных процессах (фолликулярная и лакунарная ангины, гнойный гайморит) часть кислородных радикалов неизбежно проникает в окружающие ткани и кровь, вызывая системные реакции (98). Повышение количества активных кислородных радикалов наблюдается в течение 7 - 10 дней, к этому времени наблюдается также повышение активности антиоксидантных систем: каталазы и супероксиддисмутазы (64).

Фагоцитарные показатели больных с воспалительными заболеваниями ЛОР-органов, как правило, снижены по сравнению со здоровыми донорами (1, 55, 70). Возможно, выброс АФК влияет на все энергетические ресурсы клеток, при этом уменьшается доля внутриклеточных кислородных радикалов, страдает степень завершенности фагоцитоза и создаются условия для длительной персистенции бактерий внутри фагоцитов (64). Это наблюдается при хронических воспалительных процессах бактериального генеза.

Решающую роль в выживании микроорганизмов при фагоцитозе играет фермент – *каталаза*. Бактериальная каталаза быстро разрушает перекись водорода и способствует внутриклеточному выживанию стафилококков и персистенции

стафилококковой инфекции (33, 49). В ряде работ показано, что штаммы стафилококка, активно продуцирующие каталазу, не уничтожаются в фагосомах, что приводит к персистенции инфекционного агента в организме (64).

В течение последних лет доказано участие *цитокинов* в патогенезе воспалительных заболеваний ВДП (16, 76, 87).

Эти универсальные регуляторы клеточных функций секретируются всеми типами клеток: лимфоцитами, моноцитами, макрофагами, нейтрофилами, клетками эпителия, эндотелия, фибробластами (18, 24, 76, 86). Действие цитокинов на клетки-мишени осуществляется через высокоспецифичные рецепторы. Эффекты цитокинов реализуются по *сетевому* принципу, т. к. передаваемая клетке информация содержится не в индивидуальном пептиде, а в наборе регуляторных цитокинов. При этом они действуют как синергисты или антагонисты.

Цитокины, как молекулы короткодистантного действия, при иммунном ответе или в начальной стадии воспаления практически не поступают в кровоток, в сыворотке они определяются в очень низких концентрациях (менее 50 пкг/мл). В биологических жидкостях (назальный, ларингеальный смывы, экссудат из полости среднего уха) у здоровых лиц цитокины также практически не выявляются (70, 92).

Провоспалительные цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α) контролируют клеточные взаимодействия при воспалении. Они регулируют миграцию клеток в очаг воспаления, их активацию, продолжительность жизни. Воспаление является физиологической, универсальной реакцией организма на внедрение инфекционного агента, антигена или на повреждение

ткани. Для острого воспаления характерно быстрое развитие и короткое течение (при отсутствии осложнений), при этом локальная воспалительная реакция сопровождается системным острофазовым ответом (17, 75).

Острая воспалительная реакция инициируется вследствие активации тканевых макрофагов и секреции ими провоспалительных цитокинов. Среди микробных активаторов высвобождения цитокинов наиболее сильное действие оказывает эндотоксин или *липополисахарид* (ЛПС). Среди цитокинов, выделяемых макрофагами под действием микробных компонентов, особая роль принадлежит ФНО- α и ИЛ-12. Секретируемые макрофагами на ранней стадии воспалительного ответа эти и другие цитокины выполняют *важные функции*:

- служат сигналами для эндотелиальных клеток, привлекающих лейкоциты из кровотока;

- активируют фагоцитарные клетки в тканях и слизистых оболочках, обеспечивая тем самым механизмы «врожденной резистентности» (о чем говорилось выше);

- определяют вместе с антигеном тип Т-клеточного ответа: Th1 или Th2 (24,49,83) (рис.1).

Вначале под действием ИЛ-1 и ФНО- α увеличивается экспрессия молекул клеточной адгезии на клетках эндотелия, макрофагах, нейтрофилах (38). Нейтрофилы появляются в очаге острого воспаления на его ранней стадии, и это обусловлено индукцией цитокинами экспрессии Е-селектина на поверхности эндотелия в течение 4 - 12 часов. Важную роль в миграции нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов играют β 2-интегрины (LFA-1 и CR3), которые связываются эндотелиальными

молекулами ICAM –1 и ICAM-2 на эндотелии сосудов. Миграцию лейкоцитов в ткани и их активацию вызывают *хемокины*. Кроме того, ФНО- α непосредственно активирует макрофаги и нейтрофилы (26, 49, 91). Под действием ФНО- α и ИЛ-12 естественные киллеры (ЕК) выделяют ИФН- γ , который дополнительно активирует фагоцитоз и бактерицидную активность фагоцитов (76).

Ведущая роль в регуляции развития воспалительного ответа принадлежит фактору, угнетающему миграцию макрофагов, который обеспечивает генерацию макрофагов в очаге воспаления и их активацию. Кроме этого, МИФ нивелирует противовоспалительный и иммуносупрессивный эффект глюкокортикоидов (24, 92).

Течение и интенсивность воспалительного ответа контролируется также противовоспалительными цитокинами; так, в частности, ИЛ-10, ИЛ-4, ТФР β подавляют секрецию провоспалительных цитокинов.

Важное значение в развитии ХСО также имеют иммунологические механизмы резистентности, как системные, так и локальные.

Многочисленными исследованиями показано, что при хронических воспалительных заболеваниях ВДП происходит изменение и цитокинового фона: на смену цитокинам острого воспаления (ИЛ-1, ФНО- α) приходят ИЛ-6 и ИФН- γ . Начинается выработка печенью белков острой фазы воспаления и стимуляция гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы.

Патогенные бактерии и вирусы, часто вызывающие воспалительные заболевания ЛОР-органов, могут индуцировать

или ингибировать синтез цитокинов как в периферической крови, так и в отделяемом из гайморовых пазух, полости среднего уха (35, 89, 92, 103).

Многие исследования последних лет посвящены изучению цитокинового состава экссудата полости среднего уха при ОСО и ХСО. Так, в экссудате полости среднего уха обнаруживаются провоспалительные цитокины, такие как интерлейкины-1,-6,-8, фактор некроза опухоли (ФНО- α) (90, 89, 103).

Микроорганизмы, такие как *Haemophilus influenzae* и *Moraxella catarrhalis*, продуцируют эндотоксины, которые активируют макрофаги и вызывают в них синтез *миграцию ингибирующего фактора* (МИФ). Этот цитокин регулирует течение воспалительного процесса в полости среднего уха и играет важную роль в патогенезе ОСО. S. Kariya и соавт. (2003) показали, что в 97 % случаев в барабанной полости как взрослых, так и детей, больных ОСО, определяется МИФ и бактериальный эндотоксин. Следует отметить, что у детей содержание МИФ в два раза превышает уровень этого цитокина, определяемого у взрослых (92).

В то время, как провоспалительные цитокины (ИЛ-1, ФНО- α) выявляются лишь в 5-12 % случаев в низкой концентрации, МИФ может вызвать активную миграцию макрофагов в барабанную полость, их активацию, привлечение фибробластов в зону патологического очага. Это, в свою очередь, может явиться причиной развития тимпаносклероза (87).

Недостаточность функций фагоцитов как основных эффекторных клеток противомикробной защиты, нарушение

баланса в системе цитокинов являются ключевыми факторами в развитии острых и хронических средних отитов (88, 89).

Однако, многие аспекты нарушения функциональной активности фагоцитов при ОСО и ХСО, в частности выработка АП, кислородных радикалов и ИЛ-1 недостаточно изучены. Это определяет актуальность изучения иммунных нарушений в патогенезе воспалительных заболеваний среднего уха, что имеет существенное значение для разработки адекватных методов иммунокоррекции.

1.3. Иммунокорректирующая терапия в лечении воспалительных заболеваний ЛОР-органов

В настоящее время среди врачей не существует единого мнения относительно тактики лечения острых и хронических средних отитов. Отчасти это связано с многообразием появившихся в последнее время новых препаратов и методов лечения. Так, если еще 50 лет назад у медиков на вооружении были лишь сульфаниламиды и пенициллины, то только теперь в России зарегистрировано около 200 антибактериальных препаратов.

Несмотря на активную разработку новых антибиотиков, во всем мире отмечается рост к ним резистентности основных возбудителей инфекций.

Однако, частое применение антибиотиков приводит к развитию стойкого иммунодефицита и к возникновению устойчивых к антибиотикам возбудителей среднего отита.

Элиминация микробного возбудителя является результатом синергичного взаимодействия между защитными силами макроорганизма и антимикробными агентами. Антибиотики, противовирусные и противогрибковые средства малоэффективны у лиц со сниженным иммунитетом. В связи с этим, обосновано применение в комплексном лечении ОСО и ХСО препаратов, обладающих избирательным действием на иммунную систему.

Достижения в области иммунологии стали основой для разработки новых методов иммунокоррекции у больных с различной патологией ЛОР-органов. Иммунная коррекция в настоящее время включается в комплексное лечение заболеваний ЛОР-органов и профилактики осложнений при патологии ВДП.

Комплексная иммунотерапия воспалительных заболеваний ЛОР-органов может осуществляться *несколькими методами*:

- активная иммунизация;
- пассивная заместительная иммунотерапия;
- применение иммуномодулирующих препаратов (5).

Метод *активной иммунизации* с успехом применялся в клинике с середины 80-х годов прошлого столетия для лечения острых и хронических отитов, риносинуситов (12). При этом парентерально вводили нативный анатоксин, антифагин, стрептостафилококковую и синегнойную вакцины (11). Повышенное внимание к этому виду терапии связано с наличием данных о роли лимфатического глоточного кольца в обеспечении иммунитета слизистых, так называемой, солидарности слизистых (7, 95).

В настоящее время особый интерес представляет возможность местного применения иммуномодуляторов бактериального происхождения со свойствами вакцин в лечении воспалительных заболеваний ВДП. Одним из препаратов этой группы является иммуномодулирующий респираторный спрей (ИРС-19), изготовленный из 19 штаммов наиболее распространенных бактериальных возбудителей инфекций дыхательных путей и предназначенный для местного применения (5).

Лечебное и профилактическое действие этой вакцины основано на стимуляции локальных механизмов естественного иммунитета, которые проявляются в активации макрофагов, стимуляции эндогенного лизоцима, интерферона. При этом возрастает и специфический иммунный ответ, а именно,

увеличивается количество иммунокомпетентных клеток в слизистой оболочке, повышается синтез секреторных иммуноглобулинов класса А, образующих защитную пленку на слизистой. Препарат действует местно во входных воротах инфекции дыхательных путей, при этом не наблюдается побочных эффектов. Обоснованным является включение подобных иммуномодуляторов (бронхомунал, рибомунил) в курсы лечения у детей со склонностью к гнойным заболеваниям уха, околоносовых пазух, ангинам и с В-клеточным иммунодефицитом.

Заместительная терапия предусматривает применение специфических, высокоочищенных иммуноглобулинов и препаратов сыворотки.

Иммуотропные препараты также применяются в комплексном лечении воспалительных заболеваний ЛОР-органов. В последние годы иммуотропные препараты классифицируют на три группы: иммуномодуляторы, иммуностимуляторы и иммунодепрессанты (61).

Иммуномодуляторы – это препараты, обладающие иммуотропной активностью, которые в терапевтических дозах восстанавливают функции иммунной системы (эффективную иммунную защиту) (42). В комплексной терапии воспалительных заболеваний ЛОР-органов наиболее целесообразно применение иммуномодуляторов. Эти препараты действуют только на патологические звенья иммунной системы.

Д. Хэдден разработал *классификацию иммуномодуляторов*, основанную на механизме их действия:

- выделяют иммуномодуляторы с преимущественным действием на фагоцитарные клетки, В-, Т- и естественные киллеры;

- по происхождению иммуномодуляторы разделяются на экзогенные (микробные препараты), эндогенные (иммунорегуляторные пептиды и цитокины) и синтетические (полиоксидоний) (63).

Клетками-мишенями для препаратов микробного происхождения (пирогенал, рибомунил, ликопид) являются фагоциты. Вследствие активации этих клеток и повышения уровня синтезируемых ими цитокинов усиливается активность как клеточного, так и гуморального иммунного ответа, т.е. всех звеньев иммунной системы.

Главными мишенями для препаратов тимического происхождения являются Т-лимфоциты. Иммунофан является препаратом последнего поколения из этой группы, включающей Т-активин, тималин, тимопозитин (47). Иммунофан влияет на пролиферацию Т-клеток, увеличивая продукцию ИЛ-2.

В настоящее время все более широкое применение в клинике находят препараты патогенетического действия, осуществляющие терапевтические эффекты через физиологическую регуляцию патологических процессов в организме (65). Перспективным направлением в этой области является *топическая цитокиноterapia*.

По своей сути цитокины являются универсальными медиаторами межклеточных взаимодействий, т.е. теми молекулами, при помощи которых клетки иммунной и других систем организма «общаются» друг с другом. Биологическая роль

этих регуляторных пептидов неоспорима при развитии широкого круга патофизиологических состояний; в частности, процессы повреждения и воспаления тканей с одной стороны, и процессы репарации и регенерации с другой, регулируются цитокинами.

Цитокины обладают такими свойствами, как плейотропность, каскадность, синергизм и антагонизм, что в каждом конкретном случае приводит к уникальности регуляции межклеточных взаимодействий при развитии того или иного процесса. Таким образом, важной стороной применения цитокинотерапии является физиологичность и в то же время своеобразность действия цитокинов на патогенез различных заболеваний.

Ярким примером может служить иммуномодулирующее действие данных пептидов в случае недостаточности механизмов активации клеток, которая может быть обусловлена дисбалансом выработки цитокинов. Применение цитокинов в этом случае как терапевтического средства приводит к усилению функциональной активности клеток иммунной системы, и наоборот, при гиперактивности этих клеток дополнительная количество цитокинов вызывает нормализацию их деятельности.

Естественно, что такое действие определяет применение цитокинов при широком круге заболеваний.

В последние годы в комплексное лечение воспалительных заболеваний ЛОР-органов включаются иммуномодуляторы цитокиновой природы.

Беталейкин (лекарственная форма рекомбинантного ИЛ-1 β) с успехом применен у больных гнойным гайморитом (52). Препарат назначался курсом в виде 5 ежедневных внутривенных

капельных инфузий. При такой схеме отмечена высокая эффективность лечения у больных гнойными гайморитами. Противовоспалительное действие, уменьшение бактериальной обсемененности наблюдалось у больных с микрофлорой, резистентной к антибиотикам. При этом повышалась активность лейкоцитов, выделенных из очагов воспаления, и синтез цитокинов.

Механизм действия беталейкина заключается в активации фагоцитарной активности нейтрофилов и способности стимулировать функциональную активность Т- и В-лимфоцитов и костномозговое кроветворение (52).

Подобные эффекты были получены и при применении виферона, рекомбинантного препарата ИЛ-2 – ронколейкина у больных острым гнойным синуситом (14, 56).

В организме цитокины работают по принципу сети, то есть передаваемая клетке информация содержится не в индивидуальном пептиде, а в наборе цитокиновых молекул (60), в связи с чем эффективными являются комплексные препараты цитокинов (19, 30).

Лейкинферон, представляющий смесь природных цитокинов (ИЛ-1, -6, ФНО, МИФ), и ИФН- α с успехом применялись в лечении воспалительных процессов верхних и нижних дыхательных путей. Эффективность лейкинферона показана при лечении острых абсцессов легких, хронического тонзиллита (69, 70). В большинстве клинических наблюдений отмечено, что под влиянием лейкинферона нормализуется активность фагоцитов, возрастают их цитотоксическая функция, бактерицидность и цитотоксичность, восстанавливается цитокиновый статус (55).

На кафедре иммунологии РГМУ разработан новый иммуностропный препарат с прямым противомикробным действием – «Суперлимф» (ФСР 42-0185-0573-00, № регистрации 000516/01-2001).

Суперлимф представляет собой стандартизированный комплекс цитокинов, среди которых установлена активность интерлейкинов (ИЛ-1, -2, -6), фактора некроза опухоли α (ФНО α), фактора, ингибирующего миграцию фагоцитов (МИФ), трансформирующего фактора роста β (ТФР- β). Комплексный состав препарата позволяет не только расширить область его применения, но и максимально приближает его действие к физиологическому, так как в организме регулирующее действие цитокинов на клетки-мишени определяется не индивидуальной молекулой, а их композицией (10,20,69).

Основной механизм действия Суперлимфа связан с активацией клеток фагоцитарного ряда, фибробластов и усилением взаимодействий между этими клеточными элементами. Препарат стимулирует процесс фагоцитоза макрофагов и нейтрофилов, выработку ими активных форм кислорода и азота, продукцию клетками собственных цитокинов, регулирует их миграцию, активирует противоопухолевую цитотоксичность и способствует гибели внутриклеточных паразитов. В то же время Суперлимф влияет на функциональную активность фибробластов, синтез ими коллагена (9, 23). Схема механизма действия препарата представлена на рис.2 (Методические рекомендации «Суперлимф в лечении патологии органов зрения» Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская 2002).

Кроме того, под влиянием экзогенных цитокинов происходит изменение собственного цитокинового фона тканей, что в свою очередь индуцирует приток в очаг мононуклеарных

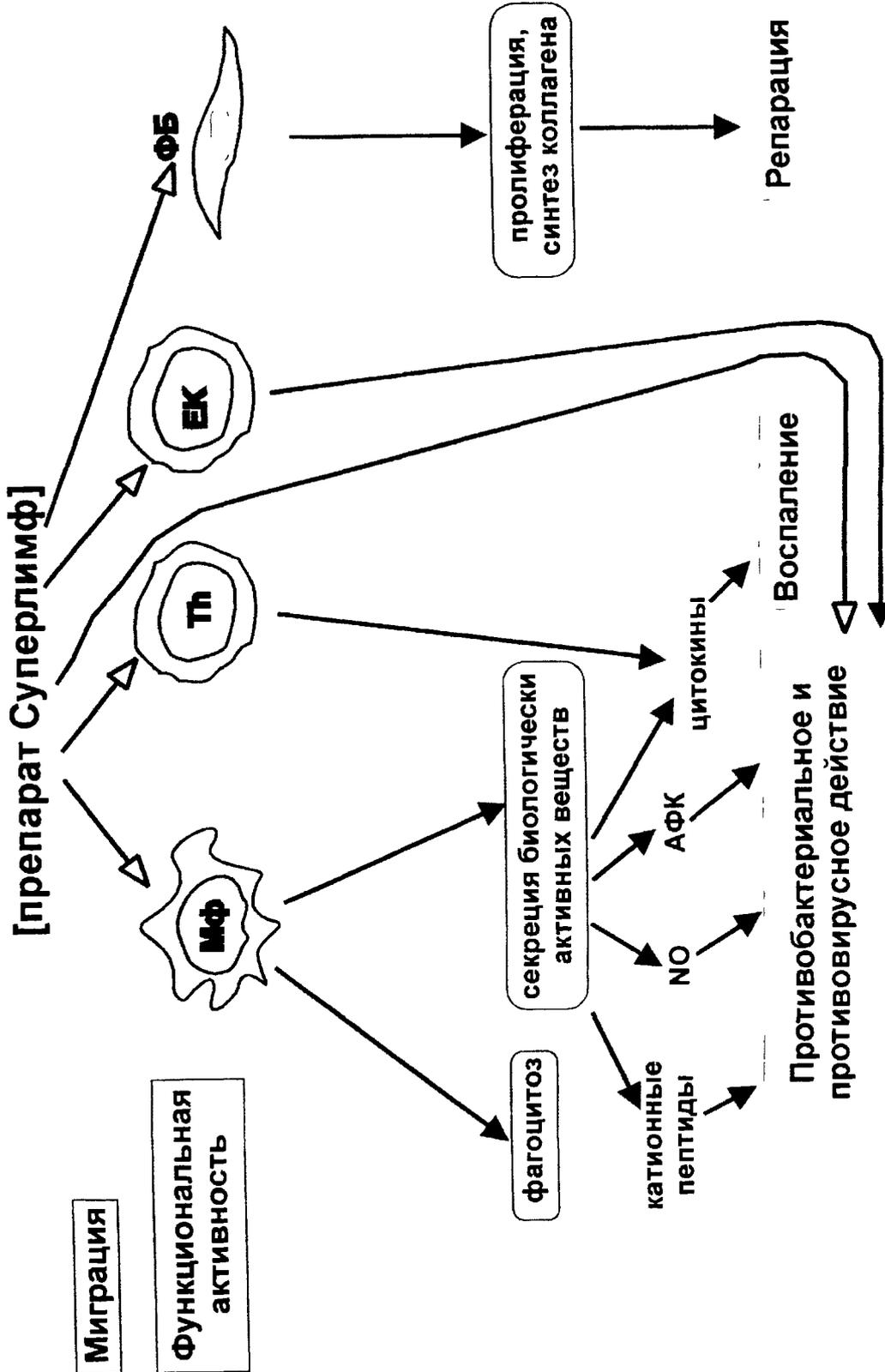


Рис. 2 Механизм топической цитокинотерапии препарата Суперлимф

фагоцитов, в связи с чем воспалительная реакция приобретает локальный и менее выраженный характер. Усиление функциональной активности макрофагов способствует более быстрой резорбции продуктов распада и усилению репаративных процессов с полным восстановлением дефекта без образования грубых рубцов барабанной перепонки.

В настоящее время установлено прямое антибактериальное действие препарата. Суперлимф оказывал бактерицидное действие на рост *S. aureus* и *E. Coli*. Эффект зависел от дозы препарата (19, 71). На рис.3а и рис.3б представлена схема механизма торможения роста микроорганизмов *S. aureus* и *E. Coli* препаратом Суперлимф, импрегнированном на бумажных дисках (данные получены аспирантом Кафедры иммунологии РГМУ Аведовой Т.А.). Эффект противомикробного действия Суперлимфа сравним с действием классических антибиотиков. Это обусловлено, по-видимому, присутствием в препарате противомикробных пептидов - протегринов. Являясь катионными пептидами, они нарушают целостность мембраны микробной клетки, процессы клеточного дыхания, синтеза белка, что в конечном счете, приводит к ее гибели.

Известно также опосредованное действие Суперлимфа на рост микробов через активацию выхода лизосомальных ферментов лейкоцитов, в частности, катепсина G (19). Это свойство препарата очень важно при локальном его применении у больных средними отитами, так как известно, что возбудителями острого среднего отита являются патогенные штаммы стафилококка, сочетающиеся с другими микроорганизмами – синегнойной палочкой, протеем и различными видами кишечных палочек (36).

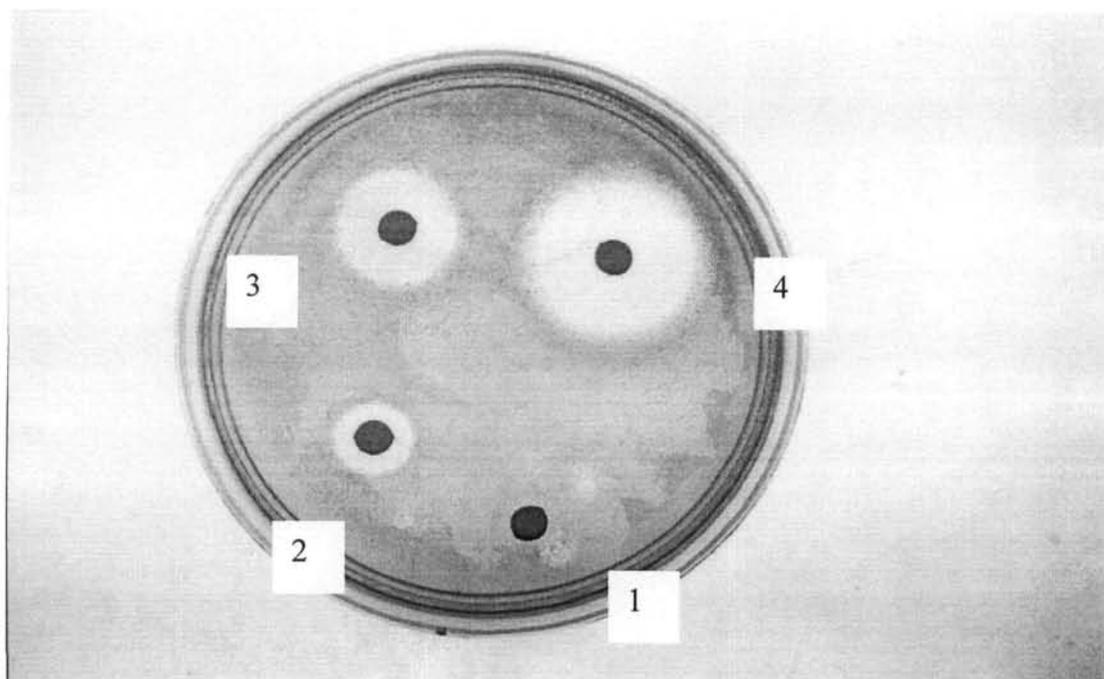


Рис. 3а Торможение роста золотистого стафилококка (*S. aureus* ATCC 6538P) противомикробными пептидами (фракция 1) препарата Суперлимф.

1 – контроль, 2 – 0,1 мг/мл, 3 – 1,0 мг/мл, 4- 10 мг/мл

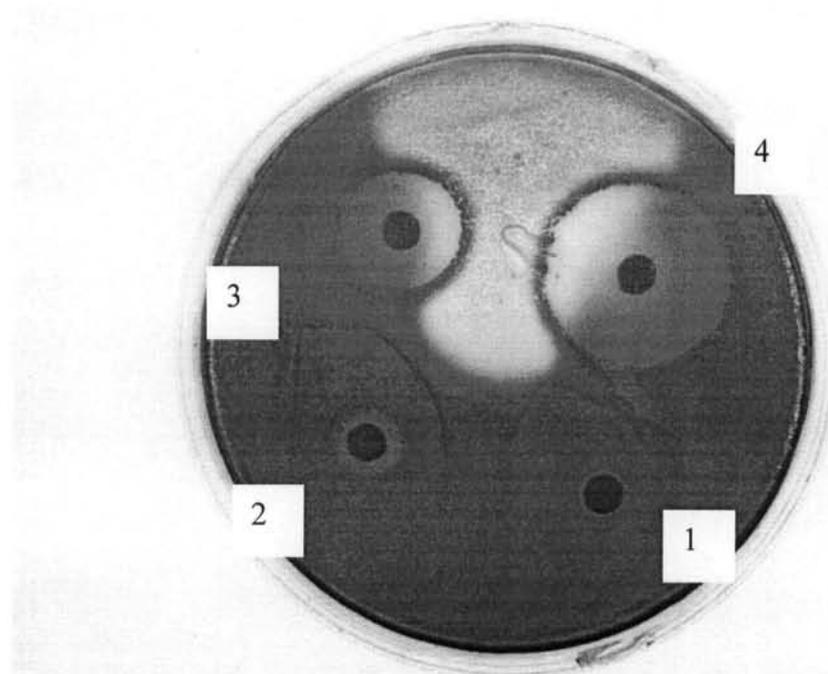


Рис. 3б Торможение роста кишечной палочки (*E. coli* ATCC 25922) при действии фракции 1 противомикробных пептидов препарата Суперлимф.

1 – контроль, 2 – 0,1 мг/мл, 3 – 1,0 мг/мл, 4- 10 мг/мл

Противовирусный эффект Суперлимфа обусловлен как прямым ингибирующим действием препарата на репликацию вируса простого герпеса 1 типа, так и опосредованным - через активацию цитотоксических клеток-эффекторов (макрофагов, естественных киллеров и др.) (23, 25, 67).

Таким образом, применение иммуномодулятора Суперлимф с противомикробным действием в терапии воспалительных заболеваний ЛОР-органов, особенно сопровождающихся иммунодефицитом, как системным, так и на уровне слизистой, представляется патогенетически обоснованным (23, 74).

Суперлимф активирует локальные иммунные механизмы, приводит к естественной санации воспалительного очага, стимулирует репаративные процессы. При топической цитокинотерапии Суперлимфом применение синтетических антибиотиков, обладающих побочными действиями сокращается до минимума или полностью исключается.

Возможно также сочетанное применение антибиотиков на ранних стадиях воспалительного процесса в комплексе с цитокинами и другими иммуномодуляторами (62, 63). В этом случае по возбудителю наносится «двойной удар»: антибиотик или другое химиотерапевтическое средство понижает функциональную активность микроорганизма, а иммуномодулятор повышает функциональную активность фагоцитов. За счет этого достигается более эффективная защита организма и элиминация возбудителя.

В последние годы появился ряд антибиотиков (рулид, модивид), обладающих иммуностимулирующим действием (15).

Совместно с Курским государственным медицинским университетом, Смоленской медицинской академией проводятся клинические испытания препарата Суперлимф. Разработана и утверждена Программа испытаний безопасности, реактогенности и клинической эффективности препарата цитокинов Суперлимф у больных с воспалительными заболеваниями ЛОР-органов (протокол № 4 от 19 апреля 2001 г.).

В настоящее время накоплен большой опыт локального применения препарата Суперлимф в комплексном лечении острых и хронических синуситов, ринитов, тонзиллитов, фарингитов (28, 53, 55, 66). В ряде случаев весьма эффективной оказалась монотерапия Суперлимфом. Так, в работе И.А. Снимщиковой разработаны показания для применения монотерапии суперлимфом; для пролонгирования контакта препарата со слизистой верхнечелюстной пазухи рекомендовано его введение в 3% растворе оксипропилметилцеллюлозы.

Оценка клинической эффективности препарата показала, что локальное его применение способствует более быстрому и стойкому купированию воспалительного процесса в околоносовых пазухах, значительно сокращает сроки лечения, предотвращает развитие рецидивов и не сопровождается побочными реакциями.

Наряду с этим, локальное применение Суперлимфа способствует более быстрому, по сравнению с традиционной терапией, восстановлению нарушенных показателей системного и местного иммунитета (55) и не влияет на транспортную функцию мерцательного эпителия слизистой оболочки полости носа (29, 46).

В работе А.С. Шустичкой разработана схема комплексного применения Суперлимфа с антибиотиками в лечении больных острым верхнечелюстным синуситом. Монотерапия была эффективна у ряда больных, при этом наблюдалось восстановление функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов и изменение спектра цитокинов в сыворотке крови. Отмечено значительное увеличение содержания ИФН- γ и рецепторного антагониста ИЛ-1 (66).

Анализ литературы, посвященной данной проблеме, позволяет сделать *следующие выводы*:

1) В настоящее время недостаточно изучены системы фагоцитарных клеток и ряда цитокинов у больных ОСО и ХСО, определяющие течение и исход воспалительного процесса в полости среднего уха;

2) Практически отсутствуют работы по топическому применению цитокинов в лечении ОСО и ХСО;

3) Не разработаны схемы применения цитокинов в лечении ОСО и ХСО.

Для восполнения этих недостающих сведений нами проведено настоящее исследование.

ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика больных

За период с 2000 по 2003 г.г. нами было проведено обследование и лечение в ЛОР-отделениях Городской клинической больницы №67 и ЛОР-отделении МСЧ №12 Федерального управления «Медбиоэкстрем» при МЗ РФ (Москва) 96 пациентов с воспалительными заболеваниями среднего уха.

Критериями для включения пациентов в исследование и лечение с использованием препарата Суперлимф являлись:

1) При остром среднем отите:

1. возраст – старше 16 лет;
2. острые средние неперфоративные (катаральные) и перфоративные (гнойные) отиты;
3. отсутствие отогенных внутричерепных осложнений.

2) При хроническом гнойном среднем отите:

1. возраст – старше 16 лет;
2. больные с обострением гнойного мезотимпанита;
3. частые обострения гнойного мезотимпанита (чаще 1 раза в год);
4. нормальная или субфебрильная температура тела;
5. отсутствие отогенных внутричерепных осложнений.

Характеристика больных по полу и возрасту приведены в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика больных по полу и возрасту

Возраст	До 20 лет	21 - 30 лет	31 - 40 лет	41 - 50 лет	51 - 60 лет	61 – 70 лет	Старше 71 года	Всего
Пол								
Муж.	4	3	8	7	4	6	10	42
Жен.	7	9	5	9	7	9	8	54
Всего	11	12	13	16	11	15	18	96

Данные таблицы свидетельствуют о распространенности ОСО и ХСО среди людей разного возраста, по половому признаку – имелось незначительное преобладание женщин (56,2 %).

В зависимости от проводимого лечения больные были разделены на следующие основные группы:

1) 30 пациентов с ОСО, из них 10 пациентов с острыми средними неперфоративными отитами и 20 с острыми средними гнойными отитами;

2) 36 пациентов – с ХСО (мезотимпанитами), в комплексном лечении которых применялась топическая иммунотерапия препаратом Суперлимф;

3) 30 пациентов - контрольная группа (20 пациентов с ОСО и 10 пациентов с ХСО), получавших базисное лечение (Таблица 2).

Таблица 2

Распределение больных острым и хроническим средним отитом по группам

Группы больных	ОСО	ХСО	Всего
основная	30	36	66
контрольная	20	10	30
Итого:	50	46	96

Среди находившихся под наблюдением больных выявлены следующие *сопутствующие заболевания*:

- у 35,2 % отмечена избыточная масса тела;
- у 22,4 % - гипертоническая болезнь;
- у 8 % - сахарный диабет I и II типов;
- у 16,4% - хронические заболевания ЖКТ;

- у 4% - различные заболевания почек у 4% больных.

На момент начала лечения все сопутствующие хронические заболевания у наших больных находились в стадии ремиссии.

Характер патологических изменений со стороны ЛОР-органов представлен в таблице 3.

Таблица 3

Характер изменений ЛОР органов у больных с ОСО и ХСО

Характер изменений ЛОР органов	Число больных
Вторичная хроническая сенсоневральная тугоухость	28
Дисфункция слуховой трубы	38
Искривление носовой перегородки	23
Хронический гипертрофический ринит	13
Аллергические риносинусопатии	9
Хронический тонзиллит	8
Хронический фарингит	36
Хронический ларингит	2

2.2. Клинические методы исследования

Обследование больных начинали с тщательно сбора анамнеза, общего осмотра больного, оториноларингологического осмотра.

Отоскопию проводили ушной воронкой и отоскопом, подвижность барабанной перепонки определяли пневматической воронкой. Проподимость слуховой трубы определяли при помощи обычного глотка, опыта Вальсальвы, при продувании слуховой трубы по Политцеру и при ее катетеризации.

Исследование слуха производилось с помощью речи (шепотной и разговорной); при помощи камертонов С128 и С2048 проводили количественное и качественное (опыты Ринне, Вебера, Швабаха) исследование слуха; тональную пороговую аудиометрию проводили на аудиометре («Интеракустикс», АД – 226 АС – 40; Дания).

При наличии отделяемого из уха проводилось его исследование на флору и чувствительность к антибиотикам.

С учетом клинического течения заболевания, в ряде случаев пациентам проводилось рентгенографическое исследование околоносовых пазух, височных костей (в проекциях по Шюллеру и Майеру).

Всем больным выполнялись клинические анализы крови и мочи, при необходимости консультации других специалистов (терапевт, эндокринолог, невропатолог, окулист и др.).

На каждого больного заполнялась регистрационная карта по следующей форме:

1. ФИО _____

2. Возраст _____

3. № и.б. _____; госпитализация с _____ по _____

4. Диагноз _____

5. Жалобы _____

6. Анамнез заболевания _____

7. Анамнез жизни (в т.ч. хронические, наследственные, инфекционные заболевания; длительная антибактериальная и гормональная терапия)

8. ЛОР – статус:

Отоскопия:

При поступлении: _____

При выписке: _____

Акуметрия:

При поступлении: _____

При выписке: _____

Осмотр других ЛОР – органов _____

9. Микробиологическое исследование отделяемого из уха

10. Тональная пороговая аудиометрия:

При поступлении: _____

При выписке: _____

11. Данные рентгенографии височных костей по Шюллеру, Майеру: _____

12. Клинический анализ крови:

При поступлении: _____

При выписке: _____

13. Оценка показателей иммунного статуса:

Показатели	До лечения	После лечения
1. Выработка АФК: а) спонтанный ХЛ ответ б) индекс стимуляции		
2. Уровень цитокинов а) Концентрация ИЛ - 1 β в сыворотке крови б) Концентрация ИФН- γ в сыворотке крови		
3. Активность катепсина G в лейкоцитах		
4. Активность β - глюкозидазы		

14. Проводимое лечение _____

15. Катамнез _____

Методика выделения мононуклеарных клеток периферической крови человека

Мононуклеарные клетки получали в асептических условиях из периферической венозной крови доноров, полученной в отделении трансфузиологии НЦХ РАМН по методу Воум (79). Гепаринизированную кровь (25 ед. гепарина (Московский эндокринный завод) на 1 мл крови) разводили средой 199 (Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН) в соотношении 1/3. В пробирку наливали 3 мл раствора фиколла-урографина $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$ (фиколл "Pharmacia", Швеция; урографин "Шеринг", Германия); затем, с помощью шприца с длинной иглой разведенную кровь в количестве 9 мл осторожно наслаивали по стенке пробирки на раствор фиколла-урографина. Подготовленные таким образом пробирки центрифугировали 30 – 40 минут при 400 g (72).

После центрифугирования из интерфазного кольца, образовавшегося на границе раздела раствора фиколла-урографина и разведенной крови, шприцем с длинной иглой или пипеткой отбирали взвесь мононуклеарных клеток и трижды отмывали центрифугированием в течение 10 минут при 400 g в растворе Хенкса (рН = 7,4; Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН). Затем супернатант удаляли и клетки помещали в 1 мл полной среды 199 (Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН).

Моноциты из полученной взвеси мононуклеарных клеток отделяли способом, основанным на адгезивных свойствах моноцитов - способности клеток прилипать на пластик (37). Для этого в лунки плоскодонного культурального планшета помещали 1×10^6 мононуклеарных клеток на 200 мкл объема лунки и

инкубировали их в течение одного часа при 37 °С в атмосфере 5% CO₂. Далее надосадочную жидкость с неприлипшими клетками снимали и осторожно промывали лунки средой 199, после чего добавляли к моноцитам полную среду и инкубировали их в тех же условиях, что и моноклеарные клетки.

Определение жизнеспособности клеток

Для определения жизнеспособности клеток использовали метод суправитальной окраски раствором трипановой сини. Матричный раствор трипановой сини разводили физиологическим раствором для получения 0,1 % раствора трипановой сини, которым окрашивали каплю взвеси клеток на предметном стекле или монослой клеток в планшете. Через 30 - 60 секунд под микроскопом подсчитывали число живых (неокрашенных) и погибших (синих) клеток. Жизнеспособность оценивали как процент гибели клеток, в среднем он составляла 0,9 - 0,95.

Получение полиморфноядерных лейкоцитов (ПЯЛ) из периферической крови

Гепаринизированную периферическую кровь, содержащую 25 ед/мл гепарина отстаивали 20 мин в термостате при 37°С и 20 мин при комнатной температуре (в среднем около 22°С). После оседания эритроцитов слой плазмы, обогащенной лейкоцитами, отбирали автоматической пипеткой и переносили в силиконизированные пробирки. Клетки осаждали центрифугированием в течении 10 мин при 200 g. Затем лейкомассу отмывали раствором Хенкса (рН=7,4). Подсчет клеток осуществляли в камере Горяева по стандартной методике.

2.3. Определение продукции активных форм кислорода полиморфноядерными лейкоцитами методом люминол-зависимой хемилюминесценции

Оценка образования активных форм кислорода (АФК) является высокоинформативным тестом для определения функциональной активности фагоцитов, прогнозирования тяжести заболевания и контроля за эффективностью проводимого лечения. Образование АФК оценивали путем измерения спонтанной и индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) с использованием усилителя - люминола (8, 101).

Проводилось исследование люминол-зависимой хемилюминесценцию (ЛХЛ) лейкоцитов периферической крови здоровых доноров и больных острым и хроническим средним отитом.

В качестве контрольной группы для изучения иммунологических показателей была использована кровь 23 здоровых доноров в возрасте от 20 до 55 лет.

ЛХЛ регистрировали на автоматизированном приборе «Хемилюминометр» СП «Диалог» (Москва), имеющим термостатированное отделение на 36 кювет.

Лейкоциты периферической крови получали из венозной крови по методике, описанной выше.

Непосредственное измерение ЛХЛ проводили в пластиковых кюветах при 37°C без перемешивания. Реакционный объем в каждой кювете составлял 300 мкл PBS (pH=7,3), содержащий люминол в концентрации $1,4 \times 10^{-4}$ М и 2×10^5 лейкоцитов. Каждая проба проводилась в 3-х параллелях. Интенсивность ЛХЛ в

каждой кювете регистрировалась в течение 3-х секунд с интервалом между кюветами 5 секунд и фиксировалась на мониторе в виде кинетической кривой.

В течение 30 минут регистрировали спонтанную ЛХЛ, вызванную адгезией клеток на пластик, затем добавляли по 20 мкл опсонизированного зимозана (20 мг/мл) и в течение 40 минут регистрировали индуцированную ЛХЛ.

Результаты ЛХЛ оценивали по максимальному значению (пик) на кинетической кривой и отражали в количестве импульсов за 3 секунды.

Оценку результатов проводили по трем показателям: максимальное значение спонтанной ХЛ, максимальное значение индуцированной ХЛ и индекс стимуляции (ИС), который вычисляли путем деления показателя максимума индуцированной ХЛ на показатель спонтанной ХЛ.

2.4. Определение активности лизосомальных ферментов (катепсина G и β -глюкозидазы) в полиморфноядерных лейкоцитах

Оценку активности ферментов лизосом проводили путем определения степени выхода ферментов из мембран лизосом (что можно определить подсчетом свободной доли фермента по проценту отношения свободной активности к общей).

Методика определения активности лизосомальных гликозидаз по методу Patell и Tappel (99)

В качестве субстратов использовали р-нитрофенильные производные гликозидов. Экстинкцию р-нитрофенола, продукта, образующегося в процессе ферментативной реакции, определяли на СФ-46 при длине волны 420 нм.

Схематично процесс подготовки проб изложен в таблице 4.

Таблица 4

Пробы	Гомогенат (лейкоцитов)	Субстрат (глюкопиранозид)	Цитрат-фосфатный буфер рН=5,0	H ₂ O
Опыт	0,3 мл	0,3 мл	0,3 мл	0,4 мл
Контроль на гомогенат	0,3 мл		0,3 мл	0,4 мл
Контроль на субстрат		0,3 мл	0,3 мл	0,4 мл

Подготовленные пробы в пробирках инкубировали при 37°C в течение 30 минут. Затем в пробы добавляли по 0,5 мл 25% трихлоруксусной кислоты (ТХУ), встряхивали и помещали в ледяную баню на 10 минут для остановки реакции. Образовавшийся осадок удаляли путем центрифугирования при 4000 об/мин в течение 10 минут. Затем к 1 мл надосадочной жидкости добавляли 1,5 мл 2М аммонийного буфера (рН = 10,8). Оптическую плотность проб измеряли на спектрофотометре «Spesord M 400» (Германия) при длине волны 420 нм против смеси цитрат-фосфатного и аммонийного буферов (1:1).

Активность ферментов рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{E}{K \cdot T \cdot B}, \quad \text{где:}$$

A - активность фермента в мкМоль/мин на 1 г белка;

E - прирост экстинкции за счет ферментативного расщепления субстрата;

K - коэффициент, равный экстинкции 1 мкМоль р-нитрофенола в пробе;

T – время инкубации в минутах;

B – количество белка в пробе в мг.

Для определения общей активности ферментов к пробам добавляли Тритон-Х 100 в конечной концентрации 0,1%.

Определение активности катепсина G .

Общую активность катепсина G определяли в присутствии (а свободную – в отсутствии) Тритона-Х 100, конечная концентрация которого в пробе составляла 0,1%.

Схематично процесс подготовки проб изложен в таблице 5.

Таблица 5

Пробы	Гомогенат (лейкоцитов)	Ацетатный буфер pH=3,4	Субстрат (раствор гемоглобина 8%)	H ₂ O
Опыт	0,5 мл	0,25 мл	0,25 мл	0,4 мл
Контроль на гомогенат	0,5 мл	0,25 мл	0,3 мл	0,25 мл
Контроль на субстрат		0,25 мл	0,25 мл	0,25 мл

Пробы тщательно перемешивали и инкубировали при 45°C в течение часа. Затем добавляли в пробы по 5 мл 3% ТХУ, встряхивали и помещали в ледяную баню на 10 минут для остановки реакции. Образовавшийся осадок удаляли путем центрифугирования в течение 10 минут при 4000 об/мин. Далее отбирали супернатант и определяли оптическую плотность проб на «Specord M 400» (Германия) при длине волны 280 нм против дистиллированной воды.

Активность фермента выражали в мкМолях расщепленного субстрата на мг белка (55).

2.5. Определение содержания цитокинов в плазме крови и в культурах моноцитов методом иммуноферментного анализа

Определение цитокинов проводили в плазме крови и в культурах моноцитов здоровых доноров и пациентов с ОСО.

Плазму крови получали после отстаивания гепаринизированной крови в течение 40 мин при комнатной температуре и последующего центрифугирования при 200 g в течение 10 минут.

Для определения содержания цитокинов ИЛ-1 β и ИФН- γ в биологических жидкостях использовали наборы для иммуноферментного анализа ProCon IL-1 β и ProCon ИФН- γ (протеиновый контур, РФ). В данных наборах для измерения уровней цитокинов используется "сэндвич" - вариант твердофазного иммуноферментного метода. Для реализации данного варианта использованы два моноклональных антитела с различной эпитопной специфичностью к исследуемому цитокину. Анализ проводили по предложенной производителями методике с использованием стандартного набора реактивов.

На первом этапе анализа цитокины, содержащиеся в исследуемых и калибровочных пробах, должны связаться с антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. Для этого лунки планшета промывали отмывочным буфером, затем добавляли в каждую лунку по 100 мкл аналитического буфера для образцов и конъюгата и по 100 мкл исследуемых супернатантов, после чего стрипы инкубировали в течение 2 часов при 37 $^{\circ}$ C со встряхиванием. В часть лунок вносили стандартные калибровочные пробы. По окончании инкубации содержимое лунок удаляли и дважды производили их

отмывку отмывочным буфером и дистиллированной водой, проводя полную аспирацию оставшейся жидкости.

На второй стадии анализа иммобилизованные цитокины должны провзаимодействовать со вторыми антителами, конъюгированными с биотином, при этом количество связавшегося конъюгата должно быть прямо пропорционально количеству цитокина в образце. Для взаимодействия в лунки добавляли по 100 мкл вторых антител, предварительно разведенных в буфере для образцов и конъюгата, и инкубировали стрипы в тех же условиях с последующим промыванием.

На последней стадии анализа в лунки вносили по 100 мкл конъюгата стрептавидин-пероксидазы и инкубировали в течение 30 минут при 37°C со встряхиванием. Тщательно промывали лунки отмывочным буфером и дистиллированной водой, после чего добавляли по 100 мкл субстратной смеси, состоящей из красителя – ортофенилендиамина, растворенного в субстратном буфере и 0,06 % перекиси водорода. Далее стрипы инкубировали 20 минут при комнатной температуре со встряхиванием в защищенном от прямых солнечных лучей месте, наблюдая развитие голубой окраски. Терминацию цветной реакции проводили добавлением в каждую лунку 100 мкл 1 М серной кислоты. Оценку реакции производили при длине волны 492 нм. Строили калибровочную кривую оптической плотности в лунках с известным количеством внесенного стандарта.

Общая схема иммунологических исследований представлена на рисунке 4.

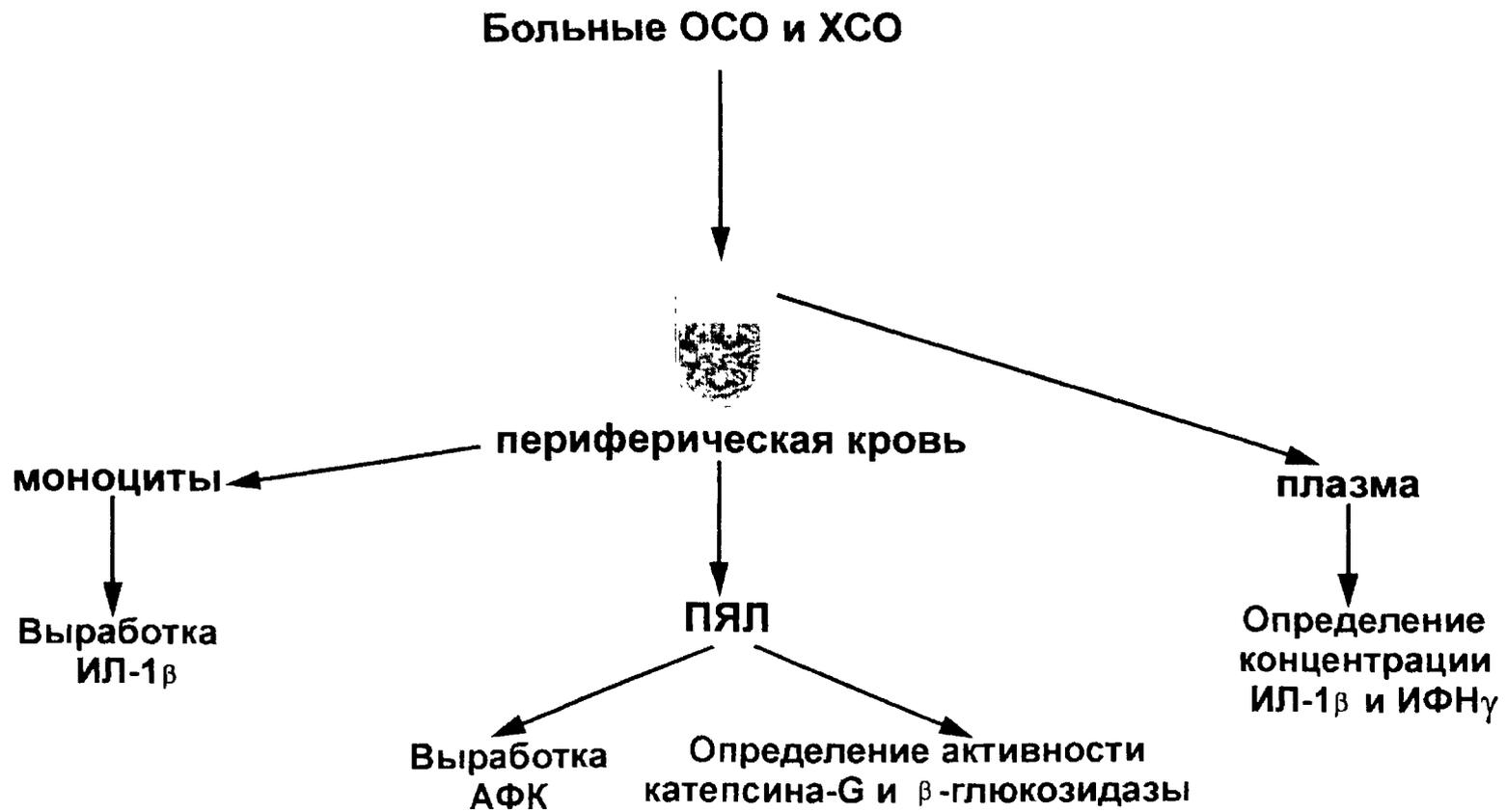


Рис.4 Общая схема иммунологических исследований.

2.6. Статистическая обработка результатов

Статистический анализ результатов проводили с использованием общепринятых статистических методов, рассчитывая в *группах данных*:

- *среднее арифметическое* (\bar{X}), $\bar{X} = \sum x_i / n$;

- *дисперсию* (σ^2), $\sigma^2 = \sum (x_i - \bar{X})^2 / n - 1$;

- *среднее квадратичное отклонение* (σ_x), $\sigma_x = \sqrt{\sum (x_i - \bar{X})^2 / n - 1}$;

где x_i – значение вариант, n – число экспериментов.

Использовали также компьютерные статистические программы *Statistica*. В таблицах и рисунках результаты представлены в виде $\bar{X} \pm \sigma$. Для сравнения групп данных использовали параметрический t критерий (критерий Стьюдента) и непараметрический критерий Уилкоксона-Манна-Уитни.

ГЛАВА 3. ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СУПЕРЛИМФА В ЛЕЧЕНИИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СРЕДНЕГО УХА

3.1. Клиническая характеристика больных ОСО и ХСО

У всех больных *острым средним неперфоративным отитом* (20 пациентов) отмечалось повышение температуры тела от $37,0^{\circ}\text{C}$ до $39,0^{\circ}\text{C}$ и общее недомогание. Основные жалобы были на боль в ухе и снижение слуха. Отоскопически у 6 больных отмечалась гиперемия барабанной перепонки по рукоятке молоточка и по радиусам. У 14 больных - резкая гиперемия барабанной перепонки, иногда выпячивание, преимущественно в задних квадрантах, сглаженность опознавательных знаков. Односторонний процесс был у 16 больных, двусторонний - у 4 больных. У всех пациентов выявлена дисфункция слуховой трубы различной степени. При исследовании слуха - снижение разговорной и шепотной речи, камертоналино - нарушения слуха по типу звукопроводения, при тональной пороговой аудиометрии - кондуктивная тугоухость I степени выявлена у 6 больных, II степень - у 10 больных, III степень - у 4 больных.

У больных *острым средним гнойным отитом* (30 пациентов) повышение температуры тела до 38°C отмечалась у 18 больных. Основными жалобами были боль в ухе - у 22 больных, отделяемое из уха и снижение слуха - у всех больных.

Отоскопически определялось: слизисто-гнойное содержимое в наружном слуховом проходе, пульсирующий рефлекс у 8 больных, в остальных случаях определялась перфорация больших размеров. Односторонний процесс наблюдался у 24 больных.

Дисфункция слуховой трубы выявлена у 19 больных. У всех больных снижен слух по типу нарушения звукопроводения. При тональной пороговой аудиометрии – кондуктивная тугоухость I степени выявлена у 5 больных, II степени – у 19 больных, III степени – у 6 больных.

При микробиологическом исследовании отделяемого из уха выявлены *следующие возбудители*:

- стафилококковая флора - у 51,4 %, в ряде случаев сочетающаяся с другими микроорганизмами – синегнойной палочкой, протеем и разными видами кишечных палочек,

- *H. Influenzae* (26,2 %),

- *M. Catarrhalis* (22,4%).

У больных с *обострением гнойного мезотимпанита* (46 пациентов), отмечалось повышение температуры тела до 37,5°C у 12 больных. Основными жалобами были: боль в ухе у 8 больных, отделяемое из уха и снижение слуха у всех больных.

Отоскопически определялось: слизисто-гнойное содержимое в наружном слуховом проходе, определялась перфорация барабанной перепонки различных размеров, чаще центральная в натянутой ее части. Остатки перепонки и слизистая медиальной стенки барабанной полости гиперемированы у 39 больных. Односторонний процесс наблюдался у 42 больных. Дисфункция слуховой трубы различной степени выявлена у 21 больного. У всех больных снижен слух, по типу нарушения звукопроводения у 18 больных и у 28 больных по смешанному типу. При тональной пороговой аудиометрии – кондуктивная тугоухость I ст. не выявлена, II ст. - у 6 больных, III ст. – у 12 больных; вторичная сенсоневральная тугоухость у остальных 28 больных, из которых -

у 21 больного - III ст. и у 7 больных - IVст. При микробиологическом исследовании отделяемого из уха выявлены следующие возбудители стафилококковая флора в 82 %, в ряде случаев сочетающаяся с другими микроорганизмами – синегнойной палочкой, протеем; кишечная палочка в 18 %. 32 больным проведено рентгенологическое исследование височной кости по Шюллеру и Майеру, у остальных 14 больных, на момент поступления в стационар, рентгенологическое исследование было выполнено не менее года назад - костно-деструктивных изменений не выявлено.

3.2. Схемы лечения препаратом Суперлимф

Суперлимф является лекарственной формой комплекса природных цитокинов, включающих факторы роста, про-и противовоспалительные цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО, ТФР, МИФ). Препарат не содержит консервантов и антибиотиков. Выпускается в виде лиофилизированного порошка для местного применения, в качестве наполнителя используется полиглюкин. Форма выпуска: ампулы по 100 мкг препарата. Перед применением препарата Суперлимф, содержимое ампулы растворяют в 1 мл стерильной воды для инъекций или в 1 мл физиологического раствора в течение 1-2 минут. Раствор может храниться в течение двух суток при 6 ± 4 °С. Также препарат Суперлимф выпускается в суппозиториях, в качестве наполнителя используется масло какао. Дозировка в свечах 25 мкг, используется ректально.

1) *Больные острым средним отитом (основная группа)*

а) *больным острым средним перфоративным (гнойным) отитом* Суперлимф вводился локально, а именно, транстимпанально нагнетанием по 0,5 мл (50 мкг) в барабанную полость 2 раза в день и на ночь - эндоурально на марлевой турунде (доза - 50 мкг/в 0,5 мл). Курс лечения составлял 5-7 дней.

б) *больным острым средним неперфоративным (катаральным) отитом* проводилась катетеризация слуховой трубы и введение 0,5 мл раствора Суперлимфа в слуховую трубу 1 раз в день и на ночь эндоурально на марлевой турунде. Курс лечения составлял 5 дней.

Лечение больных основной группы наряду с топической цитокинотерапией включало общую антибактериальную терапию перорально 5 - 7 дней (амоксиклав 625 мг по 1 таблетке 3 раза в

день, при непереносимости препаратов пенициллинового ряда применялись фторхинолоны – спарфло, либо макролиды – рулид по общепринятой схеме), местно - сосудосуживающий препарат назол в нос.

2) Больные хроническим гнойным отитом – мезотимпанитом (основная группа)

Больным с обострением гнойного мезотимпанита препарат Суперлимф применялся в виде монотерапии и вводился транстимпанально по 0,5 мл 3 раза в день. Помимо локальной цитокинолтерапии препарат Суперлимф вводился в виде суппозиторий (25 мкг) ректально, через день по одной свече № 5. Курс лечения составлял 7 - 10 дней.

3) Контрольная группа

а) *при остром перфоративном (гнойном) отите* местно использовался раствор 1% диоксидина по 0,5 мл 3 раза в день транстимпанально, назол в нос и антибактериальная терапия по схеме, использованной в основной группе.

б) *при остром неперфоративном (катаральном) отите* местно применялся отипакс, назол в нос, антибактериальная терапия по схеме, использованной в основной группе.

в) *при обострении мезотимпанита* местно использовался 1 % раствор диоксидина по 0,5 мл. 3 раза в день транстимпанально, назол в нос и антибактериальная терапия по схеме, использованной в основной группе, при лечении больных с ОСО.

3.3. Обоснование схемы лечения и оценка терапевтической эффективности применения Суперлимфа в комплексном лечении ОСО

Острые и хронические средние отиты характеризуются функциональными изменениями в системе фагоцитарных клеток и цитокинов. Применение антибиотиков, противовирусных и противогрибковых препаратов будет мало эффективно у лиц со сниженным антиинфекционным иммунитетом. Отсюда становится понятным целесообразность применения иммуотропных препаратов в комплексном лечении средних отитов, и особенно ХСО.

Топическая цитокиноterapia является патогенетически обоснованным методом иммунотерапии и заключается в локальном применении цитокинов в зоне контакта с патогеном и развития иммунопатологического процесса. Локальное применение цитокинов позволяет обеспечить точность их доставки к клеткам-мишеням, пролонгированность действия, активировать иммунные механизмы на уровне слизистой, избежать системных осложнений. Накоплен большой опыт применения комплекса природных цитокинов Суперлимф в комплексном лечении воспалительных заболеваний ЛОР-органов: острых и хронических синуситов (29, 55, 66), ринитов (28), тонзиллитов(53).

В настоящем разделе работы представлены результаты по разработке и применению различных схем локального и системного применения препарата Суперлимф, представляющего комплекс природных цитокинов, у больных ОСО.

Первым этапом оценивали переносимость препарата цитокинов – Суперлимфа по местной и системной реакции у

больных в период лечения по разработанным нами критериям. При этом учитывали отсутствие системной реакции на введение препарата: повышения температуры тела через 1, 3, 24 часа, появления гиперемии, бледности кожи, сыпи на коже через 1ч. и 24 часа, нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы (тахикардии, изменения артериального давления), расстройств нервной системы (возбуждения, заторможенности), увеличения региональных лимфатических узлов через 1 - 3 дня после начала применения препарата.

Все больные ОСО были разделены на группы.

В основной группе препарат Суперлимф подключали к базовому лечению больных ОСО с первого дня применения антибиотиков. В настоящее время обсуждается целесообразность назначения иммуностропных препаратов в лечении острых воспалительных процессов (45).

Обоснованием для включения локального применения Суперлимфа в комплексное лечение острых средних отитов явился *ряд факторов:*

1) Полученные результаты по изменению функциональной активности фагоцитарных клеток и содержанию ряда цитокинов в плазме крови у больных ОСО (увеличение активности лизосомальных ферментов – катепсина G и β - глюкозидазы; повышение синтеза ИЛ - 1β моноцитами и повышение его концентрации в плазме крови; повышение концентрации ИФН - γ в плазме крови);

2) Полученные результаты по прямой противомикробной активности препарата Суперлимф и его иммуномодулирующему действию на эффекторные функции фагоцитов (бактерицидное

действие на рост *S. aureus* и *E. Colli*, что обусловлено присутствием в препарате противомикробных пептидов - протегринов);

3) высокая клиническая эффективность и безопасность Суперлимфа в лечении острых синуситов, тонзиллитов у лиц с компрометированной иммунной системой, т.е. с признаками вторичной иммунологической недостаточности (55, 66).

В контрольной группе больные получили курс базисной терапии.

Эффективность действия Суперлимфа у больных ОСО оценивали по клиническим симптомам (температура, боль в ухе, оторея, нарушение слуха) и объективным данным (гиперемии барабанной перепонки, изменении характера и количества отделяемого, наличию перфорации, данным аудиологического исследования, срокам купирования воспаления). Для количественной оценки эффективности локальной цитокинотерапии использовали бальную систему (отличные, хорошие, удовлетворительные, без перемен, ухудшение) на 1-е, 3-е, 5-е, 7-е, 10-е, 12-е и 14-е сутки лечения.

В процессе лечения сумма баллов, отражающих тяжесть патологического процесса в полости среднего уха, снижается практически до 0 к 14-м суткам у больных с ОСО. В группе пациентов, получавших наряду с базисной терапией Суперлимф локально, уже на пятые сутки выявлялась значительная разница в динамике клинических симптомов. У больных, получавших локально Суперлимф, сумма баллов к 7-м суткам составляла $2,5 \pm 0,6$; в группе больных, прошедших базисную терапию, сумма баллов была равна $7,4 \pm 0,7$.

В исследуемые группы отбирались больные с одинаковой выраженностью клинических симптомов для достоверной оценки проведенного лечения (таблица 6).

Таблица 6

Оценка клинической эффективности проводимого лечения
больных острыми и хроническими средними отитами по баллам

Критерии	Дни						
	1	3	5	7	10	12	14
1. Клинические симптомы:							
а) температура							
б) боль в ухе							
в) гипоакузия							
г) оторея							
2. Отоскопия:							
а) гиперемия барабанной перепонки и (или) промоториальной стенки;							
б) перфорация							
в) отделяемое							
3. Аудиометрия							
4. Сроки купирования воспалительного процесса							
Сумма баллов							

Клинические симптомы:

0 – отсутствует;

1 – незначительно выражены;

2 – умеренно выражены;

3 – сильно выражены.

Аудиометрия:

0 – восстановление до исходной нормы;

1 – снижение тонального порога на 10 – 30 ДБ;

2 – снижение тонального порога на 5 - 10 ДБ;

3 – без перемен.

Сроки купирования:

0 – до 10 суток;

1 – 10 – 14 суток;

2 – больше 14 суток

Динамика клинических симптомов в баллах у больных ОСО на фоне лечения представлена на рисунках 5а и 5б.

Сумма баллов

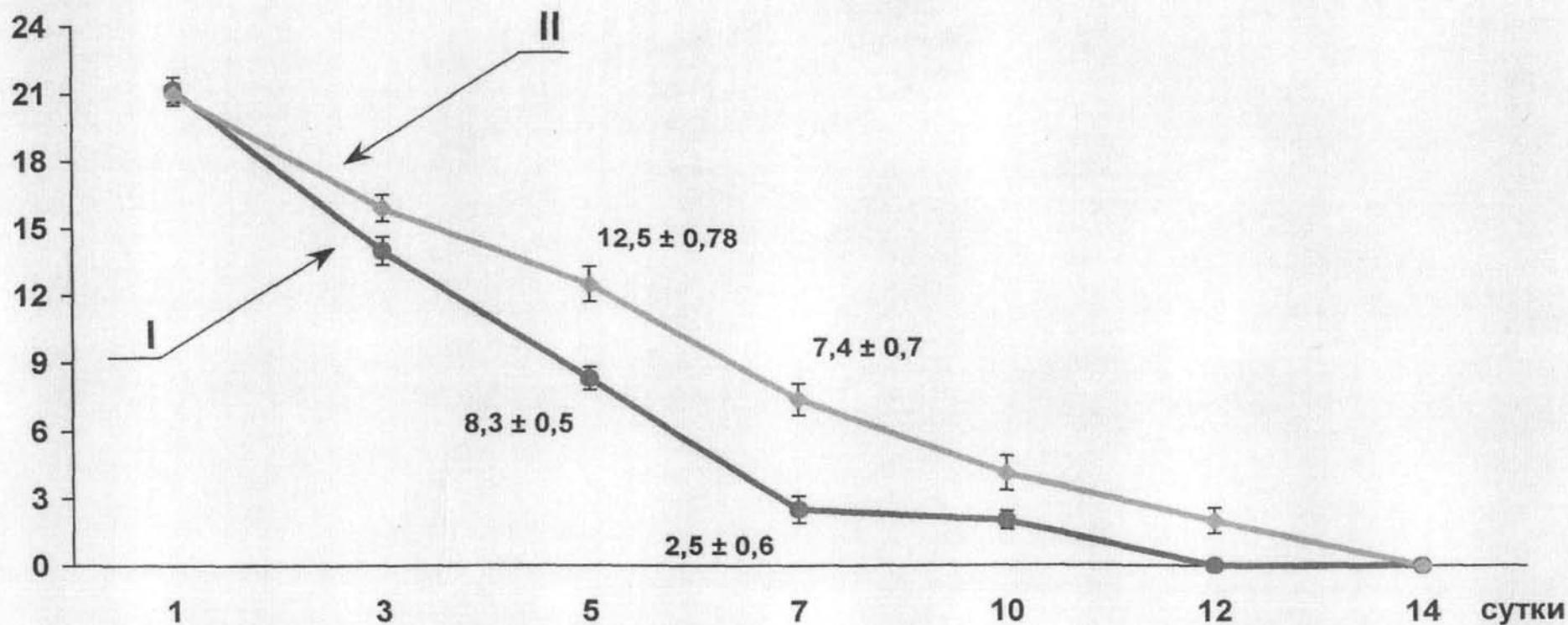


Рис. 5а Динамика клинических симптомов у больных острым средним гнойным отитом на фоне лечения

I - группа больных, получавших Суперлимф в комплексной терапии
II - группа больных, получавших базисную терапию

Комплексное применение Суперлимфа и антибиотиков больным ОСО приводило к более быстрому исчезновению болей в ухе и нормализации температуры тела на 3 сутки по сравнению с базисной терапией (на 5 сутки); отделяемое из барабанной полости прекращалось в среднем на 6 день, при этом уменьшалась выраженность гиперемии барабанной перепонки, перфорация полностью закрывалась на 7 – 8 день (в контрольной группе на 9-10 день). Эти результаты свидетельствуют о более быстром купировании воспалительного процесса в полости среднего уха при локальном применении препарата Суперлимф. Сроки купирования воспаления в полости среднего уха сокращались в среднем на 2 дня по сравнению с контрольной группой, получавшей базисную терапию.

Подробно динамика исчезновения симптомов острого среднего отита при различных способах лечения представлена в таблице 7.

Таблица 7

Динамика исчезновения симптомов у больных ОСО по группам

Симптомы	Сроки купирования симптомов в днях			
	Неперфоративные		Гнойные	
	Контроль ная группа	Основная группа	Контроль ная группа	Основная группа
<i>1. Клинические симптомы:</i>				
- температура	5,1* ± 0,4	3,0* ± 0,2	5,3* ± 0,4	3,2* ± 0,5
- боль в ухе	4,2 ± 0,5	3,4* ± 0,4	5,2* ± 0,5	3,7* ± 0,3
- нарушение слуха	11,8 ± 0,4	9,1 ± 0,3	13,5 ± 0,4	10,3 ± 0,5
<i>2. Отоскопия:</i>				
- гиперемия барабанной перепонки	8,2 ± 0,8	6,8 ± 0,6	10,1 ± 0,6	7,9 ± 0,8
- перфорация барабанной перепонки	-	-	9,2 ± 0,3	7,5 ± 0,6
- отделяемое	-	-	8,5 ± 0,8	6,1 ± 0,6
<i>3. Аудиометрия</i>	15,2 ± 0,5	12,3 ± 0,4	16,8 ± 0,3	13,7 ± 0,7
<i>4. Сроки купирования воспаления</i>	9,0 ± 0,3	7,4 ± 0,3	10,5 ± 0,3	8,3 ± 0,3

* - достоверность различий по сравнению с контрольной группой (базисная терапия) $p \leq 0,05$;

По результатам аудиометрии у 26 пациентов ОСО, пролеченных Суперлимфом, отмечалось восстановление слуха до исходной нормы. У 16 из них - полное восстановление слуха наблюдалось на 14-й день после начала лечения, у 10 - до 16-го дня. У 4 больных ОСО опытной группы снижение тонального порога на 10 - 30 ДБ и на 16-е сутки после лечения, также как и в группе больных, получавшей базисную терапию.

Сумма баллов

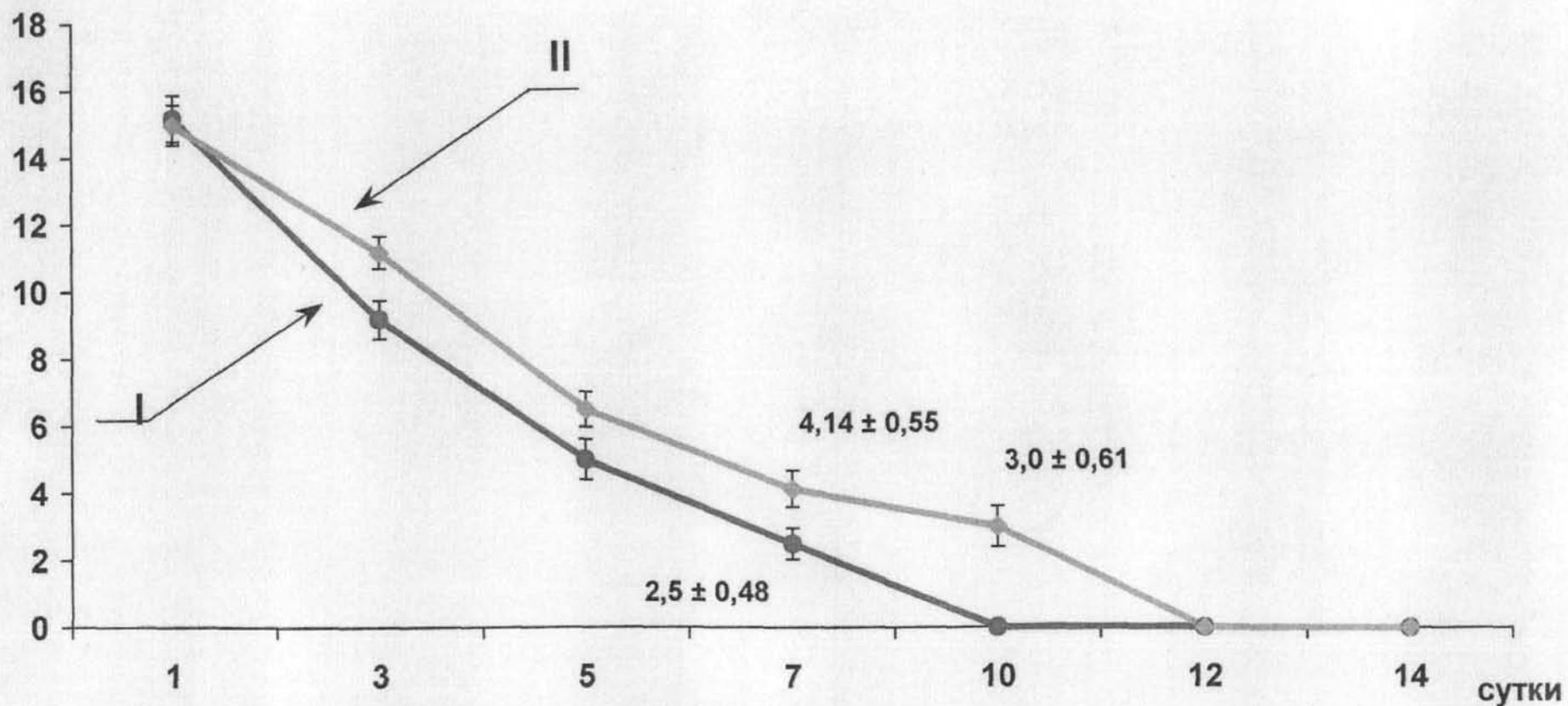


Рис. 5б Динамика клинических симптомов у больных острым средним неперфоративным отитом.

I - группа больных, получавших Суперлимф в комплексной терапии

II - группа больных, получавших базисную терапию

Приводим собственные клинические наблюдения

1 наблюдение

Больной К - в (и.б. № 28594) 31 год поступил в ЛОР – отделение ГKB № 67 с диагнозом: острый посттравматический гнойный средний отит справа. При поступлении жалобы на отделяемое из уха, снижение слуха. Из анамнеза известно, что за неделю до госпитализации пациент повредил ухо металлическим предметом (спица), появилась резкая боль, незначительное кровотечение, снижение слуха. В течение 3 дней отмечалась заложенность уха, затем появилось слизисто – гнойное отделяемое. Не лечился.

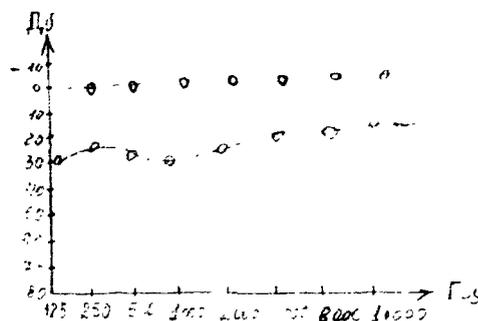
При поступлении общее состояние больного удовлетворительное, температура тела 37,2° С.

При осмотре: AD – заушная область и ушная раковина не изменены, наружный слуховой проход широкий, содержит слизисто-гнойное отделяемое без запаха, барабанная перепонка гиперемирована, опознавательные контуры стерты, центральная перфорация диаметром до 3мм. Другие ЛОР – органы без патологии.

AD		AS
-	Сш	-
1м	Шр	6м
3м	Рр	более 10м.

Отр. Ринне полож.

← Вебер



На аудиограмме - кондуктивная тугоухость II ст. справа.

Проведено лечение: амоксиклав по 625 мг 3 раза в день перорально 5 дней, транстимпанальное нагнетание Суперлимфа по 0,5 мл 2 раза в день 5 дней и эндоурально на ночь на турунде 7 дней.

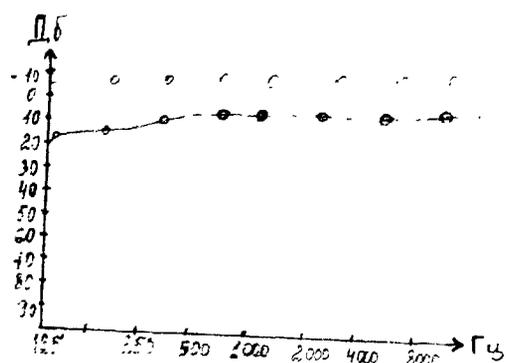
На фоне лечения температура тела нормализовалась на 2 сутки, отделяемое из уха прекратилось на 3 день, гиперемия барабанной перепонки исчезла к 6 дню, перфорация закрылась к 7 дню лечения, слух восстановился до нормы к 14 дню.

2 наблюдение

Больной Ч - ов С.В. 25 лет (и.б. № 51532) поступил в ЛОР-отделение ГKB № 67 с диагнозом: острый средний катаральный отит справа, затяжное течение. При поступлении жалобы на умеренную боль в правом ухе, снижение слуха справа. Из анамнеза известно, что за 2 недели до госпитализации после перенесенной ОРВИ появились вышеуказанные жалобы, лечился амбулаторно: ампиокс по 2 г в сут. перорально, диазолин по 2 т. 2 раза в день, нафтизин в нос (без выраженного положительного эффекта).

При поступлении общее состояние больного удовлетворительное, температура тела 37,6° С. При осмотре: АД – заушная область и ушная раковина не изменены, наружный слуховой проход широкий, свободный, отделяемого нет, барабанная перепонка гиперемирована, инфильтрирована, опознавательные контуры стерты, перфорации нет. Другие ЛОР – органы без патологии.

AD AS
 - Сш -
 2м Шр 6м
 4-5м Рр более 10м.
 Отр. Ринне полож.
 ← Вебер



На аудиограмме - кондуктивная тугоухость I ст. справа.

Проведено лечение: рулид по схеме перорально 5 дней, транстубарное нагнетание Суперлимфа по 0,5 мл 1 раз в день 5 дней и эндоурально на ночь на турунде 7 дней.

На фоне лечения температура тела нормализовалась через сутки, гиперемия барабанной перепонки исчезла к 5 дню, слух восстановился до нормы к 12 дню.

Таким образом, Суперлимф в комплексном лечении больных ОСО вызывает более раннее купирование воспаления в полости среднего уха, стимулирует процессы репарации барабанной перепонки, способствует более быстрому восстановлению слуха у пациентов. Клиническая эффективность препарата Суперлимф в лечении ОСО обусловлена комплексом природных про- и противовоспалительных цитокинов, входящих в его состав. Ранее в экспериментальных работах показано, что препарат регулирует процессы воспаления и репарации тканей (10). Противомикробные пептиды - протегрины, входящие в состав

препарата, способны оказывать бактериостатический эффект на патогенные штаммы золотистого стафилококка, что в свою очередь способствует быстрому купированию воспалительного процесса (19).

3.4. Клиническая эффективность монотерапии препаратом Суперлимф у больных хроническим средним отитом (гнойным мезотимпанитом)

Актуальной проблемой лечения ХСО у взрослых является выбор антибактериального и противовоспалительного препарата, поскольку Современная международная федерация по антибактериальной терапии отрицает её применение у больных ХСО как малоэффективный и неперспективный метод лечения (GUIDE TO ANTIMICROBIAL THERAPY 1997, Joy P. Sanford & David N. Gilbert).

При обострении гнойного мезотимпанита наблюдаются изменения функциональной активности лейкоцитов периферической крови (раздел 2.4). Нами выявлены изменения в кислородном метаболизме ПЯЛ. В частности, у больных ХСО наблюдается снижение выработки кислородных радикалов на стимулятор – опсонизированный зимозан (таблица 8), значительно повышен уровень ИЛ-1 β и ИФН- γ по сравнению с больными ОСО и здоровыми донорами (рис. 12).

В связи с этим применение комплекса природных цитокинов – препарата Суперлимф является патогенетически обоснованным.

36 больным с обострением гнойного мезотимпанита применялась монотерапия препаратом Суперлимф (локально и системно).

При ХСО наблюдаются системные изменения в иммунной системе, в частности: неполноценность бактерицидной активности фагоцитов, повышенное содержание провоспалительных цитокинов в плазме. Все это является показанием для применения Суперлимфа в лекарственной форме

в виде суппозиторий таким больным.

Эффективность лечения определялась по сумме баллов (таблица 7), оценивающих следующие симптомы: температура, боль в ухе, гиперемия остатков барабанной перепонки и слизистой барабанной полости, характер и длительность отделяемого из уха, сроки купирования воспалительного процесса.

Динамика клинической эффективности монотерапии препаратом Суперлимф больных с мезотимпанитом представлена на рис. 6.

Сумма баллов

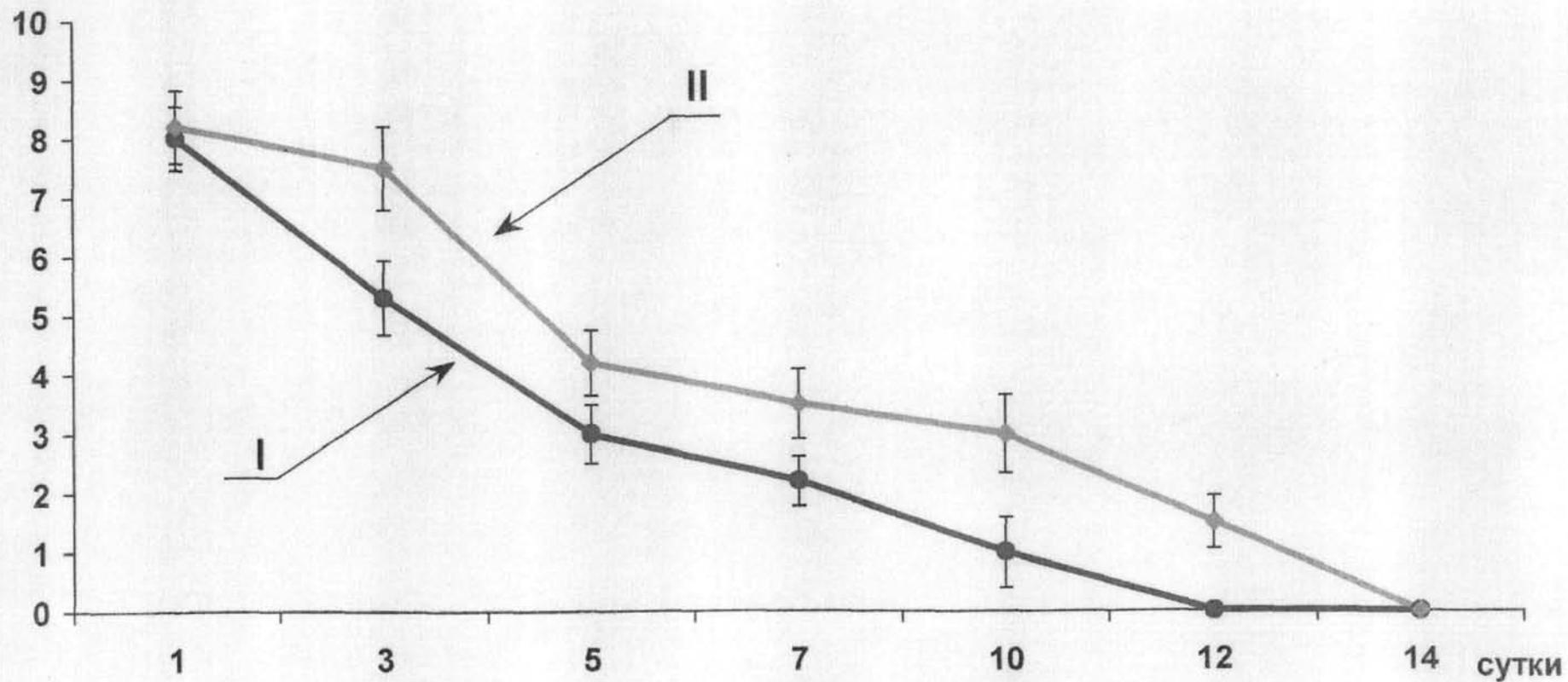


Рис. 6 Динамика клинических симптомов у больных **ГНОЙНЫМ** мезотимпонитом.

I - группа больных, получавших Суперлимф в комплексной терапии

II - группа больных, получавших базисную терапию

Из представленных данных следует, что к 10-м суткам лечения выраженность симптомов заболевания у больных, получавших только Суперлимф, снизилась до 1 балла, в то время как у больных, пролеченных традиционно – до 3-х баллов.

Анализ динамики отдельных симптомов мезотимпанита показал, что гиперемия остатков барабанной перепонки и слизистой барабанной полости, отделяемое из полости среднего уха у 90 % пациентов исчезали на 7-9 день лечения; в группе, получавшей традиционное лечение – на 12-день. Сокращались сроки купирования воспалительного процесса.

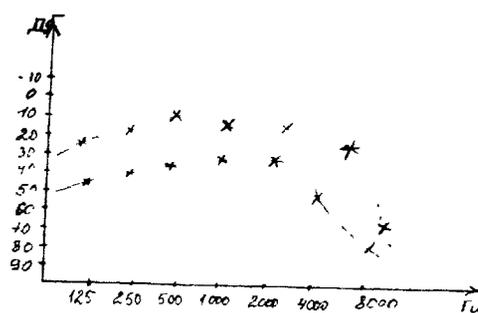
В качестве иллюстрации эффективности топической цитокинотерапии в лечении гнойного мезотимпанита приводим собственное *клиническое наблюдение*.

3 наблюдение

Больная Г - ова 80 лет (и.б. № 651) поступила в ЛОР – отделение МСЧ № 12 с диагнозом: обострение гнойного мезотимпанита слева с жалобами на отделяемое из уха, ухудшение слуха. Из анамнеза известно, что пациентка болеет с юности, периодические обострения (2 раза в год), последнее около 3-х недель. Не лечилась.

При поступлении общее состояние удовлетворительное, температура тела в норме. При осмотре: AS – заушная область и ушная раковина не изменены, наружный слуховой проход широкий, густое слизисто-гнойное отделяемое, умеренная гиперемия медиальной стенки барабанной полости и остатков барабанной перепонки. Другие ЛОР – органы без патологии.

AD		AS
-	Сш	-
4м	Шр	у уха
более 6м	Рр	1м



полож. Ринне отриц.

Вебер →

На аудиограмме - смешанная тугоухость 111 ст. слева.

Проведено лечение: транстимпанальное нагнетание Суперлимфа по 0,5 мл 3 раза в день 7 дней, ректальные свечи с Суперлимфом № 5 через день.

На фоне лечения гиперемия остатков барабанной перепонки и медиальной стенки барабанной полости исчезли к 5 дню, отделяемое из уха прекратилось к 7 дню лечения, слух улучшился на 5 – 10 Дб по всему диапазону частот.

Курс антибиотикотерапии не проводился. Больная выписана в удовлетворительном состоянии на 10-й день.

Положительный клинический эффект выбранной тактики лечения пациентов с гнойным мезотимпанитом главным образом заключался в полном отказе от применения антибиотиков, что у лиц пожилого возраста с компрометированной иммунной системой особенно важно. Помимо этого, препарат Суперлимф является иммуномодулирующим средством: активируя функцию клеток фагоцитарной системы, обладая прямым противомикробным действием, препарат повышает иммунологические механизмы противомикробной защиты.

Учитывая это, мы изучили влияние монотерапии препаратом Суперлимф на динамику показателей хемилюминесцентного ответа лейкоцитов и уровня цитокинов в плазме крови больных мезотимпанитом. Лейкоциты пациентов с ХСО не отличались от здоровых доноров по уровню спонтанной хемилюминесценции. Однако выработка кислородных радикалов в ответ на стимулятор была ниже нормальных показателей (таблица 8). Возможно в этом проявлялся дефицит бактерицидной активности фагоцитов у больных ХСО. После проведенного курса цитокинотерапии препаратом Суперлимф отмечалась нормализация хемилюминесцентного ответа лейкоцитов периферической крови.

Исследованиями последних лет установлена важная роль цитокинов в развитии и исходе воспаления. При этом показана ключевая роль провоспалительных цитокинов. С учетом этого была определена концентрация ИЛ-1 β и ИФН- γ в плазме крови на фоне монотерапии. После проведенного курса лечения наблюдалась достоверная положительная динамика, однако уровни цитокинов на 10-й день обследования не достигали нормальных значений (рис. 15, 16). Концентрации ИЛ-1 β и ИФН- γ в плазме крови больных оставались достоверно выше, чем у больных ОСО и здоровых доноров.

Таким образом, разработанная нами схема монотерапии хронических средних отитов (гнойных мезотимпанитов) способствовала более быстрому купированию воспалительного процесса в барабанной полости и полному исключению антибиотиков из схемы лечения пациентов.

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ РЯДА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ С ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СРЕДНЕГО УХА НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ ЦИТОКИНАМИ

4.1. Изучение функциональной активности фагоцитарных клеток и цитокинов в плазме крови у больных с острым средним отитом (ОСО) и хроническим средним отитом (ХСО)

Воспаление, развивающееся в полости среднего уха, вызывается условно-патогенными и патогенными микроорганизмами, к ним относятся, в частности такие внеклеточные бактерии, как стафилококки, стрептококки и другие. Главная роль в борьбе с этими микробами принадлежит фагоцитарным клеткам.

Полиморфно-ядерные лейкоциты (ПЯЛ) являются клетками естественной противомикробной защиты, они играют ведущую роль в индукции воспаления. Эти клетки первыми мигрируют из кровотока в патологический очаг и включают разнообразные механизмы уничтожения микробов (31, 51, 104). Среди них большое значение имеют кислород-зависимые и кислород-независимые механизмы бактерицидности (32, 49).

В связи с этим в нашей работе большое внимание уделено изучению функции полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови у больных острым и хроническим средними отитами.

4.1.1. *Исследование выработки активных форм кислорода лейкоцитами больных ОСО и ХСО*

В данном разделе представлены результаты по комплексному изучению выработки активных форм кислорода (АФК) лейкоцитами периферической крови больных острым средним отитом (ОСО) и хроническим средним отитом (ХСО).

Генерация активных радикалов кислорода исследовалась методом люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛХЛ) по вышеописанной методике.

Были исследованы образцы крови 15 больных ОСО и 10 больных ХСО в начале заболевания и после проведенного лечения перед выпиской.

Важной характеристикой кислородного метаболизма ПЯЛ является спонтанный хемилюминесцентный ответ клеток, выделенных из периферической крови больных. По уровню спонтанной хемилюминесценции ПЯЛ больные ОСО распределились на две группы (рис.7).

У 70% пациентов показатели спонтанной ХЛ ПЯЛ превышали показатели здоровых доноров в 2,2 раза и равнялись $1333,7 \pm 184,7$. Это свидетельствует о значительной активации ПЯЛ этой группы больных острым средним отитом. В то же время у 30% больных ОСО спонтанная ХЛ не отличалась от группы здоровых доноров.

Лейкоциты этих групп больных ОСО отличались также и по выработке АФК на стимулятор фагоцитоза – опсонизированный зимозан.

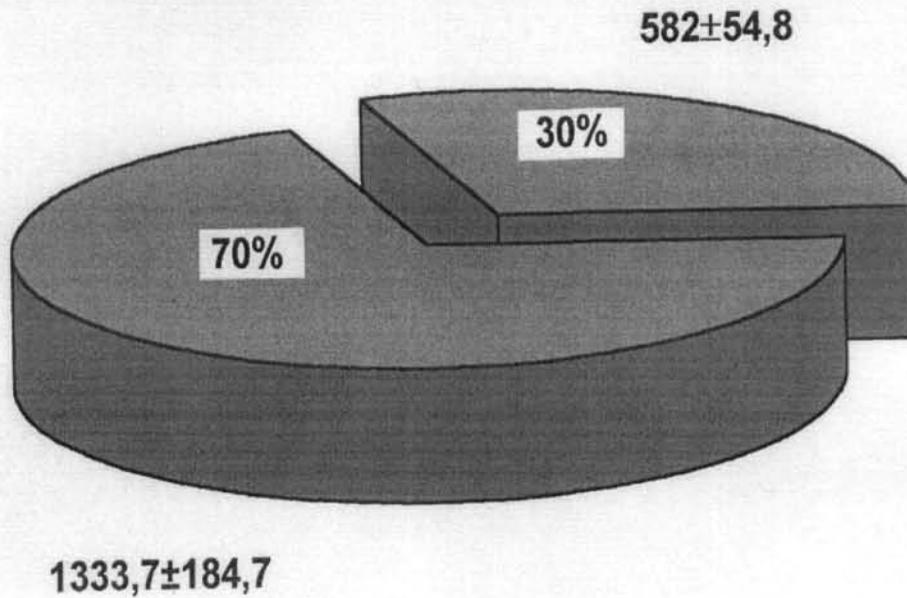


Рис. 7 Распределение больных ОСО по уровню спонтанной хемилюминисценции лейкоцитов.

ПЯЛ больных ОСО с исходно высоким уровнем спонтанной хемилюминисценции вырабатывали меньшие количества АФК на стимулятор по сравнению с группой здоровых доноров. Индекс стимуляции у больных ОСО этой группы равен 3,3 (таблица 8). По-видимому, гиперактивированные лейкоциты больного не способны отвечать на последующую стимуляцию выработкой активных кислородных радикалов, что характеризует снижение кислород-зависимых механизмов противомикробной защиты этих клеток. Эти результаты согласуются с данными, полученными А.С. Шустицкой по увеличению спонтанной ХЛ лейкоцитов в периферической крови у больных острыми синуситами и ее снижению при действии стимулятора (66). В.Н. Коршиков также показал повышение спонтанной хемилюминисценции

нейтрофилов в смывах из гайморовых пазух. В 56% случаев последующая стимуляция этих нейтрофилов приводила к угнетению ХЛ-ответа. (29, 55).

Таблица 8

Хемилюминесцентный ответ лейкоцитов острым средним отитом и здоровых доноров.

Обследованные группы		Показатели ХЛ	
		Спонтанная ХЛ	Индекс стимуляции (ИС)
Больные ОСО	1 группа	1333,7* ± 84	3,3*
	2 группа	582,0 ± 54,8	9,75*
Больные ХСО		733,6 ± 169,3	3,6*
Здоровые доноры		600 ± 200	5,2

* - значения достоверно отличаются от контрольной группы (группа здоровых доноров) ($p \leq 0,05$);

Лейкоциты больных ОСО с нормальным уровнем спонтанной ХЛ отвечали на стимуляцию мощным кислородным взрывом. Индекс стимуляции (ИС) был равен 9,75, что в 2 раза превосходило ИС здоровых доноров (таблица 6). Такая гиперпродукция АФК может вызвать повреждение окружающих тканей и генерацию воспалительной реакции (32).

У больных с ХСО показатели спонтанной хемилюминесценции не отличались от показателей здоровых доноров. Индуцированная выработка АФК была ниже нормальных значений. Таким образом, у больных ХСО наблюдается изменение одной из мощных антимикробных систем ПЯЛ - системы кислородных радикалов, что может являться причиной хронического воспаления.

4.1.2. Изменение активности лизосомальных ферментов (катепсина G и β -глюкозидазы) в полиморфноядерных лейкоцитах больных ОСО и ХСО

Наряду с генерацией активных форм кислорода ПЯЛ вырабатывают ряд ферментов, оказывающих прямое противомикробное действие. Среди них - сериновые протеиназы, получившие название «катепсин G». Воздействие катепсина G на микробы сопровождается нарушением синтеза белка, молекул РНК, ДНК, целостности мембраны, что, в конечном счете, приводит к гибели микробной клетки. (27). Другой фермент лейкоцитов (β -глюкозидаза) расщепляет кислые гликозаминогликаны некротизированных клеток и бактерий (48, 59). Есть основания считать, что антимикробные белки нейтрофилов являются особым классом физиологически активных молекул, осуществляющих защитные реакции в барьерных тканях (44, 97).

Важным вопросом является изменение активности этих ферментов в лейкоцитах больных ОСО.

Активность ферментов определяли по степени выхода их из мембран лизосом. Для этого проводили подсчет свободной доли фермента по проценту отношения свободной активности к общей (процент св/общ) (99).

У больных ОСО активность катепсина G достоверно выше по сравнению со здоровыми донорами (рис. 8).

Чем выше процент отношения свободной активности катепсина G к связанной, тем менее прочна связь этого фермента с мембраной лизосом и выше его активность. Повышение активности сериновой протеиназы – катепсина G в лейкоцитах

свободная/общая активность
(%)

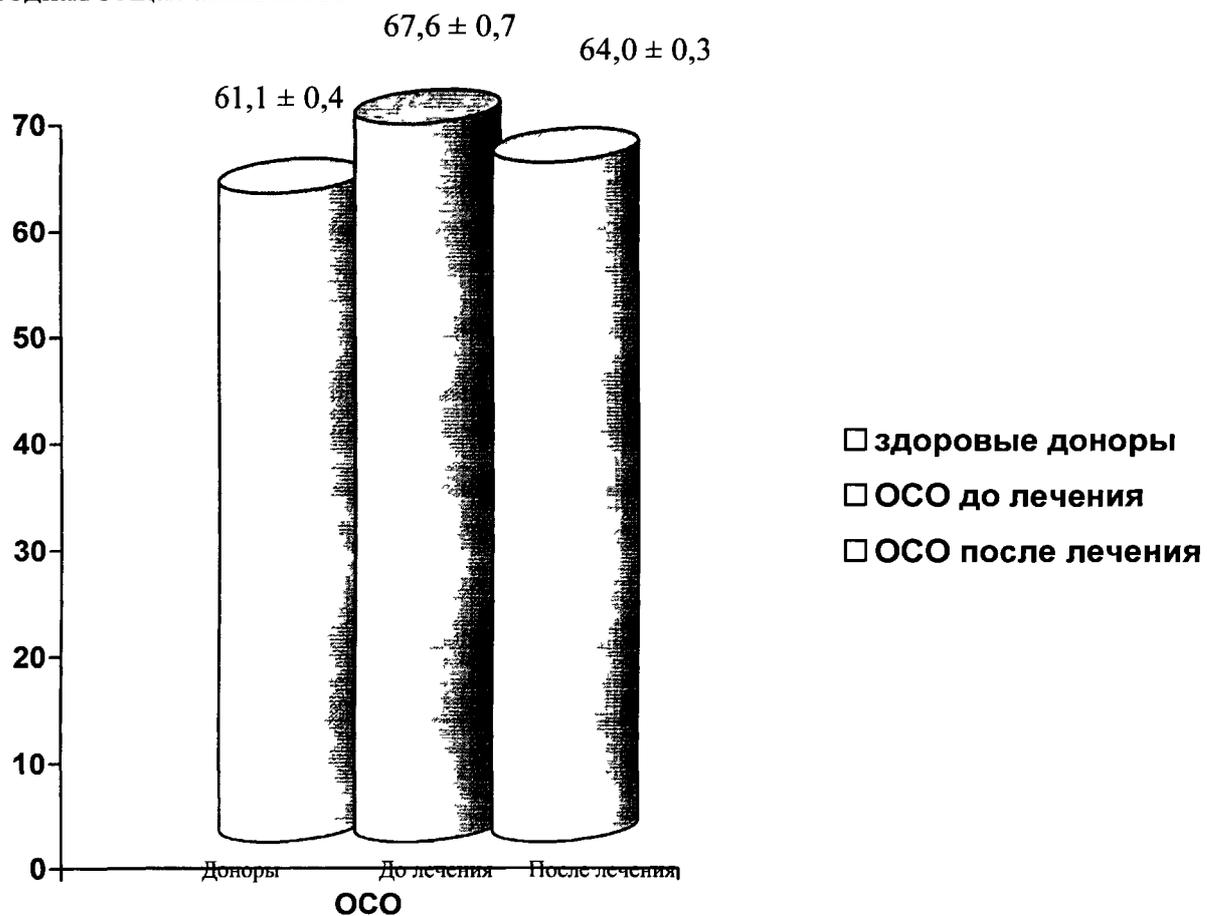


Рис. 8 АКТИВНОСТЬ КАТЕПСИНА G ЛЕЙКОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ОСО

свидетельствует об участии этих клеток в остром воспалительном процессе и может рассматриваться как один из механизмов естественного иммунитета организма, направленного против инфекционных факторов (43). Катионные пептиды нейтрофилов, в том числе и катепсин G, модулируют активность макрофагов и таким образом участвуют в формировании специфического иммунного ответа на конкретные микроорганизмы (27, 44).

По мнению ряда авторов, развитие и поддержание воспалительного процесса может быть связано с воздействием на ткани кислых гидролаз лизосом лейкоцитов таких, как β -глюкозидаза. Этот фермент расщепляет кислые глюкозаминогликаны некротизированных клеток и бактерий (48). У больных острым средним отитом до лечения активность β -глюкозидазы в лейкоцитах была повышена по сравнению со здоровыми донорами (рис. 8, таблица 9). Процент отношения свободной активности β -глюкозидазы к связанной был равен $49,0 \pm 0,8$; у здоровых доноров этот показатель равен $42,4 \pm 0,9$. У больных хроническим средним отитом наблюдается также большее увеличение активности β -глюкозидазы по сравнению с больными ОСО (рис. 9). Не исключено, что поддержание хронического воспаления может быть вызвано повышением активности лизосомальных ферментов лейкоцитов у больных ХСО.

Таблица 9

Ферменты Исследуемые группы	Свободная активность/общая активность (%)	
	Катепсин G	В-глюкозидаза
Больные ОСО:		
до лечения (n= 10)	67,6* ± 0,7	49,0* ± 0,8
после лечения(n=10)	64,0* ± 0,3	45,8* ± 0,9
Здоровые доноры (n = 7)	61,1 ± 0,4	42,4 ± 0,92

* - значение достоверно отличается от здоровых доноров (p≤0.005)

свободная/общая активность
(%)

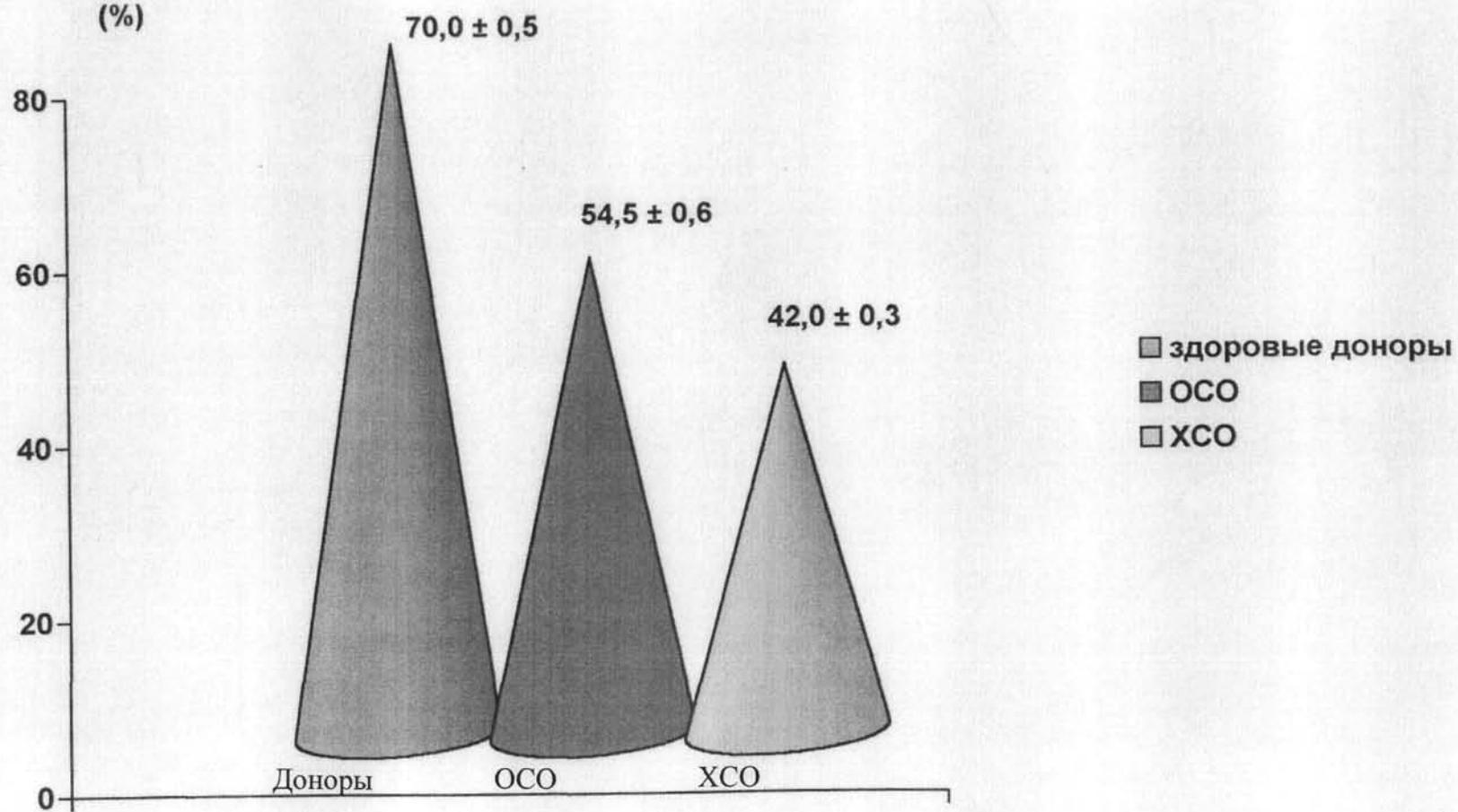


Рис. 9 Соотношение свободной активности к общей β -глюкозидазы лейкоцитов здоровых доноров, больных ОСО и ХСО.

4.1.3. Изучение выработки интерлейкина-1 моноцитами периферической крови больных ОСО

Функцию фагоцитарных клеток при воспалительном процессе контролируют провоспалительные цитокины. Они регулируют миграцию клеток в очаг воспаления, активируют их эффекторные функции такие, как фагоцитоз, выработку активных форм кислорода лейкоцитами, внутриклеточный киллинг патогенов (24, 76).

Острая воспалительная реакция инициируется вследствие активации фагоцитов липополисахаридами микроорганизмов. Следствием этого является секреция макрофагами провоспалительных цитокинов, среди которых ИЛ-1 является ключевым медиатором воспалительной реакции (86).

В настоящем исследовании проведена оценка выработки ИЛ-1 β моноцитами периферической крови больных ОСО при стимуляции их микробным ЛПС. Моноциты выделялись из периферической крови здоровых доноров и больных острым средним отитом по ранее описанной методике. Стимуляция клеток ЛПС проводилась в течение 24-ти часов, и затем в культуральной жидкости определяли содержание ИЛ-1 β методом иммуноферментного анализа. Результаты представлены на рис. 10.

Моноциты здоровых доноров и больных ОСО достоверно не отличались по уровню спонтанной выработки ИЛ-1 β . ЛПС микробного происхождения индуцировал секрецию ИЛ-1 β моноцитами больных ОСО, в 2,6 раза превосходящую секрецию моноцитов здоровых доноров. Моноциты больных ОСО секретировали 1444 ± 190 пкг/мл ИЛ-1 β , моноциты здоровых

доноров – $546 \pm 51,1$ пкг/мл. Это свидетельствует о том, что моноциты периферической крови больных с ОСО предстимулированы в организме больного ОСО и готовы к экспрессии повышенного количества ИЛ-1 β .

Не исключено, что у больных ОСО наблюдается повышенное содержание этого цитокина в плазме крови.



Рис. 10 Спонтанная и ЛПС- индуцированная выработка ИЛ-1 β моноцитами больных ОСО и здоровых доноров

4.1.4. Определение интерлейкина-1 β и интерферона- γ в плазме крови больных ОСО и ХСО

С помощью иммуноферментного анализа проведено определение содержания ИЛ-1 β в плазме больных ОСО. Результаты представлены на рис. 11.

В плазме больных ОСО уровень ИЛ-1 β значительно повышался. Концентрация ИЛ-1 β в 5 раз превосходила показатели здоровых доноров и была равна 1500 ± 85 пкг/мл. По-видимому, как показали наши исследования, большую роль в повышении уровня ИЛ-1 β в плазме больных ОСО имеют моноциты, стимулированные микроорганизмами.

ИФН- γ , являясь мощным стимулятором макрофагов, способствует усилению синтеза провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α) этими клетками. У больных ОСО определено также повышенное, по сравнению с нормой, содержание ИФН- γ в плазме. Средний уровень ИФН γ у больных ОСО составил 990 ± 125 пкг/мл (рис.11).

В дальнейшем проведено сравнение уровня ИЛ-1 β и ИФН- γ у больных ОСО и ХСО (рис. 12).

У больных с хроническим средним отитом также наблюдалось повышенное содержание ИЛ-1 β и ИФН- γ в плазме крови по сравнению со здоровыми донорами. Однако, достоверных различий в содержании ИЛ-1 β в плазме больных острым и хроническим отитом не выявлено.

Содержание ИФН- γ при ХСО было достоверно выше, чем при ОСО (рис.12). При хроническом воспалительном процессе, как известно, изменяется и цитокиновый фон. В частности, на

смену медиаторам острого воспаления (ИЛ-1 β , ФНО α) приходят ИЛ-6 и ИФН- γ . В работах многих исследователей показано, что воспалительные процессы ЛОР-органов сочетаются с нарушениями продукции, активности или рецепции регуляторных цитокинов (2, 66, 90). У больных синуситами повышенная концентрация ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-6 обнаружена в смывах из полости гайморовых пазух (55). Выраженный дисбаланс в системе цитокинов при хронических средних отитах может приводить к развитию тяжелых экссудативных реакций, грубому рубцеванию в барабанной перепонке (87). Работами M.Forseni показана прямая корреляция между уровнем цитокинов в их смывах из полости среднего уха и процессами склерозирования барабанной перепонки (87, 88).

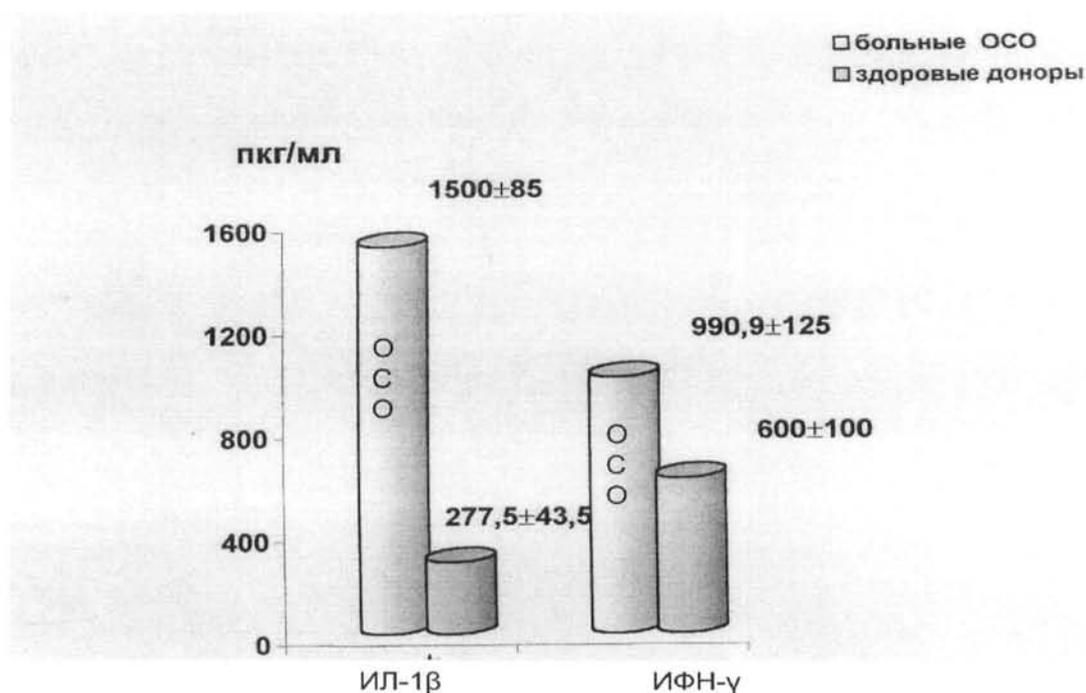


Рис. 11 Содержание цитокинов в плазме крови больных ОСО и здоровых доноров

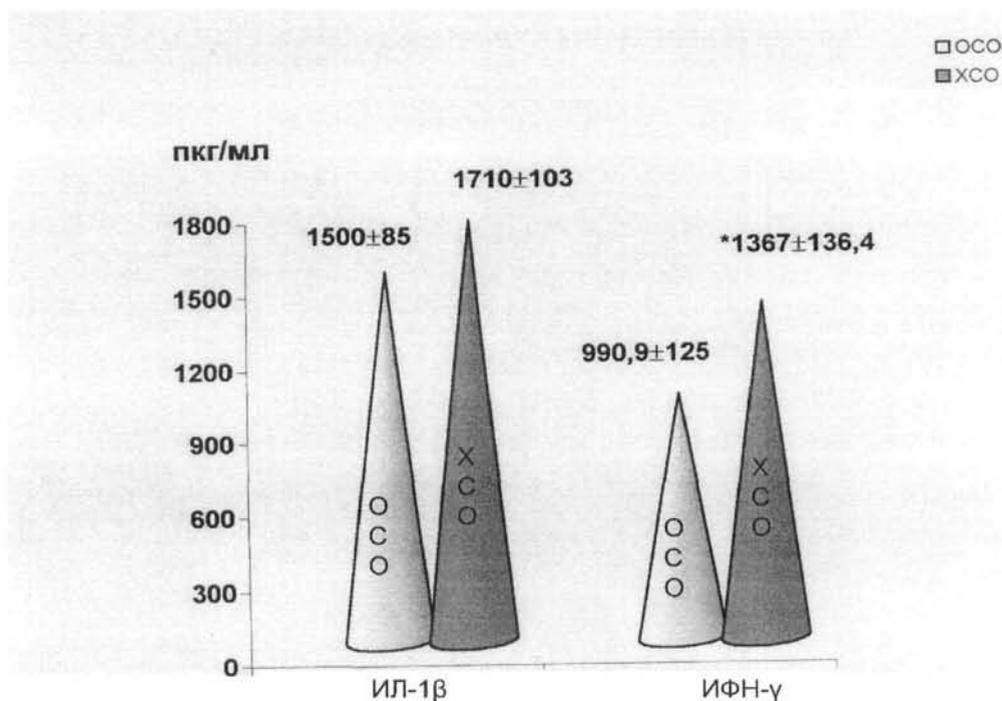


Рис. 12. Уровни ИЛ – 1 β и ИФН – γ в плазме крови больных острым и хроническим средним отитом.

Таким образом, нарушение функциональной активности клеток фагоцитарной системы, а именно, бактерицидных механизмов защиты, таких как генерация кислородных радикалов, активация лизосомальных ферментов лейкоцитов, избыточная продукция ИЛ-1β моноцитами в ответ на ЛПС бактериального происхождения, дисбаланс в системе цитокинов - все это создает условия для длительной персистенции возбудителей, хронизации воспалительного процесса в полости среднего уха.

В связи с этим изучение системы фагоцитов и цитокинов имеет существенное значение не только для уточнения генеза острых и хронических средних отитов, но и для назначения иммунокорректирующей терапии, адекватной выявленным нарушениям.

4.2. Влияние топической цитокинотерапии на функциональную активность полиморфноядерных лейкоцитов и уровень цитокинов в плазме крови у больных ОСО

Наряду с клинической симптоматикой у больных ОСО оценивали иммунологические показатели, а именно, функцию полиморфноядерных лейкоцитов (выработку АФК и активность лизосомальных ферментов) и уровень цитокинов (ИЛ-1 β и ИФН- γ) в сыворотке крови.

В группе больных ОСО, получавших комбинированную терапию, включающую антибиотики и препарат цитокинов Суперлимф, наблюдалось изменение спонтанной выработки активных кислородных радикалов ПЯЛ. До лечения у больных ОСО имелись различия в продукции АФК. У 70 % больных спонтанная ХЛ была увеличена в 2,2 раза (таблица 8). Сочетание локального применения Суперлимфа с антибиотикотерапией приводило к снижению исходно высокой продукции АФК до уровня нормальных показателей. В группе больных ОСО (30%) показатели спонтанной хемилюминесценции не отличались от показателей здоровых доноров как до, так и после проведенного лечения (рис. 13а). Полученные результаты подтверждают иммуномодулирующее влияние препарата Суперлимф на функциональную активность клеток фагоцитарной системы. Показатели индуцированной выработки кислородных радикалов лейкоцитами после лечения достоверно не отличались от показателей здоровых доноров. На рис. 13б представлены показатели индексов стимуляции в различных группах больных ОСО.

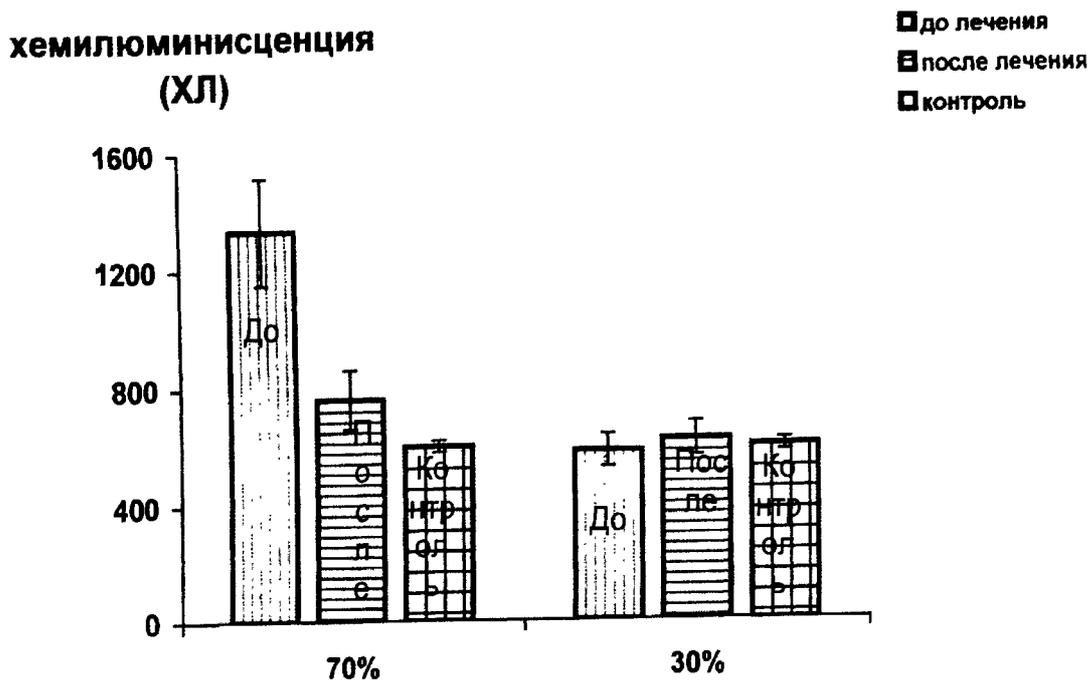


Рис. 13а Спонтанная ХЛ лейкоцитов больных ОСО до и после лечения Суперлимфом

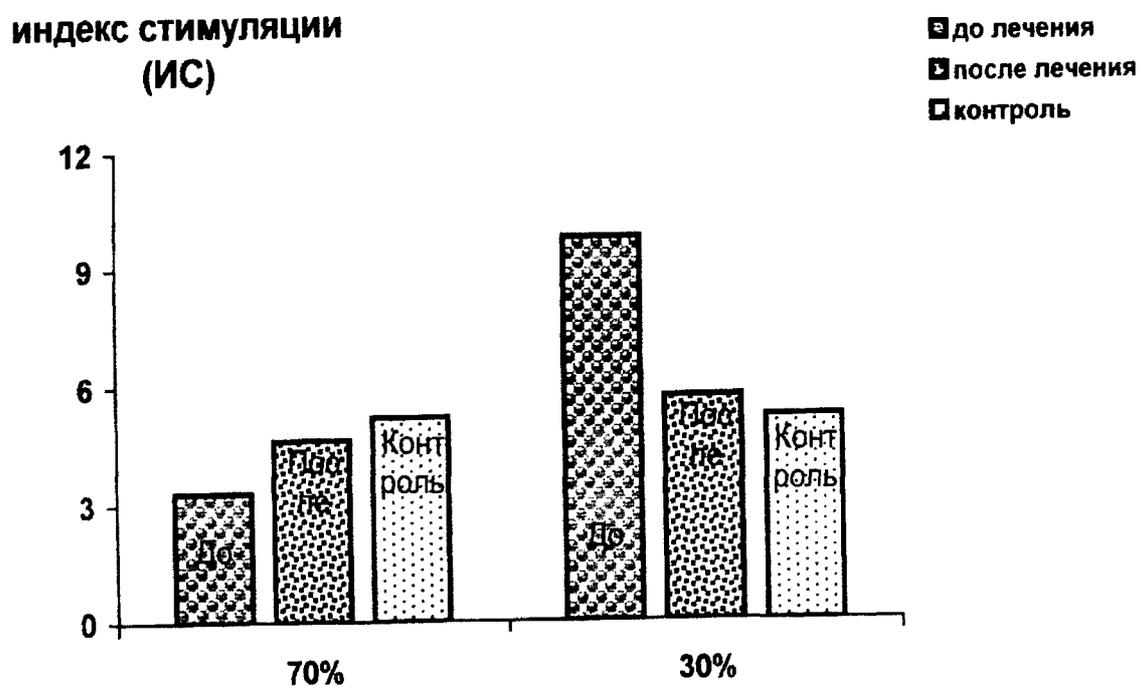


Рис. 13б Индуцированная ХЛ лейкоцитов больных ОСО до и после лечения Суперлимфом

Таким образом, после проведенного лечения показатели кислородного метаболизма нейтрофилов быстро возвращались к нормальным значениям. Следует отметить, что в группе пациентов, получавших базисное лечение, повышенный уровень хемилюминесцентного ответа ПЯЛ сохранялся и на 10-й день наблюдения. Индекс стимуляции был равен 7,9. Это свидетельствует о более медленном купировании воспалительного процесса у пациентов этой группы.

На фоне локальной цитокинотерапии Суперлимфом наблюдалось также снижение активности лизосомальных ферментов лейкоцитов: β -глюкозидазы и катепсина G (таблица 7). На 7-е сутки после лечения процент свободной активности к общей катепсина G приближался к показателям здоровых доноров и составлял $64,0 \pm 0,3$ (в контрольной группе – $61,1 \pm 0,4$; $p \leq 0,05$). Аналогичным образом изменялись и показатели активности β -глюкозидазы лейкоцитов больных ОСО (таблица 9, рис.14). Это является хорошим прогностическим признаком, свидетельствующим о стабилизации мембран лизосом лейкоцитов и благоприятном исходе воспалительного процесса.

Применение разработанной нами схемы комплексного лечения больных ОСО вызывало изменения уровня цитокинов ИЛ-1 β и ИФН- γ в сыворотке. По результатам, представленным на рисунке 5, можно сделать вывод, что уровень ИЛ-1 β понижается у больных ОСО, но не достигает концентрации ИЛ-1 β , определяемой в сыворотке здоровых доноров ($277,5 \pm 43,0$ пкг/мл). Уровень ИФН- γ после лечения возвращался к нормальным показателям ($415,0 \pm 2,5$) (рис.16).

В результате проведенных исследований можно сделать вывод, что сочетанное применение топической цитокинотерапии препаратом Суперлимф и антибиотиков приводит к восстановлению функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов и уровня цитокинов в сыворотке крови больных ОСО.

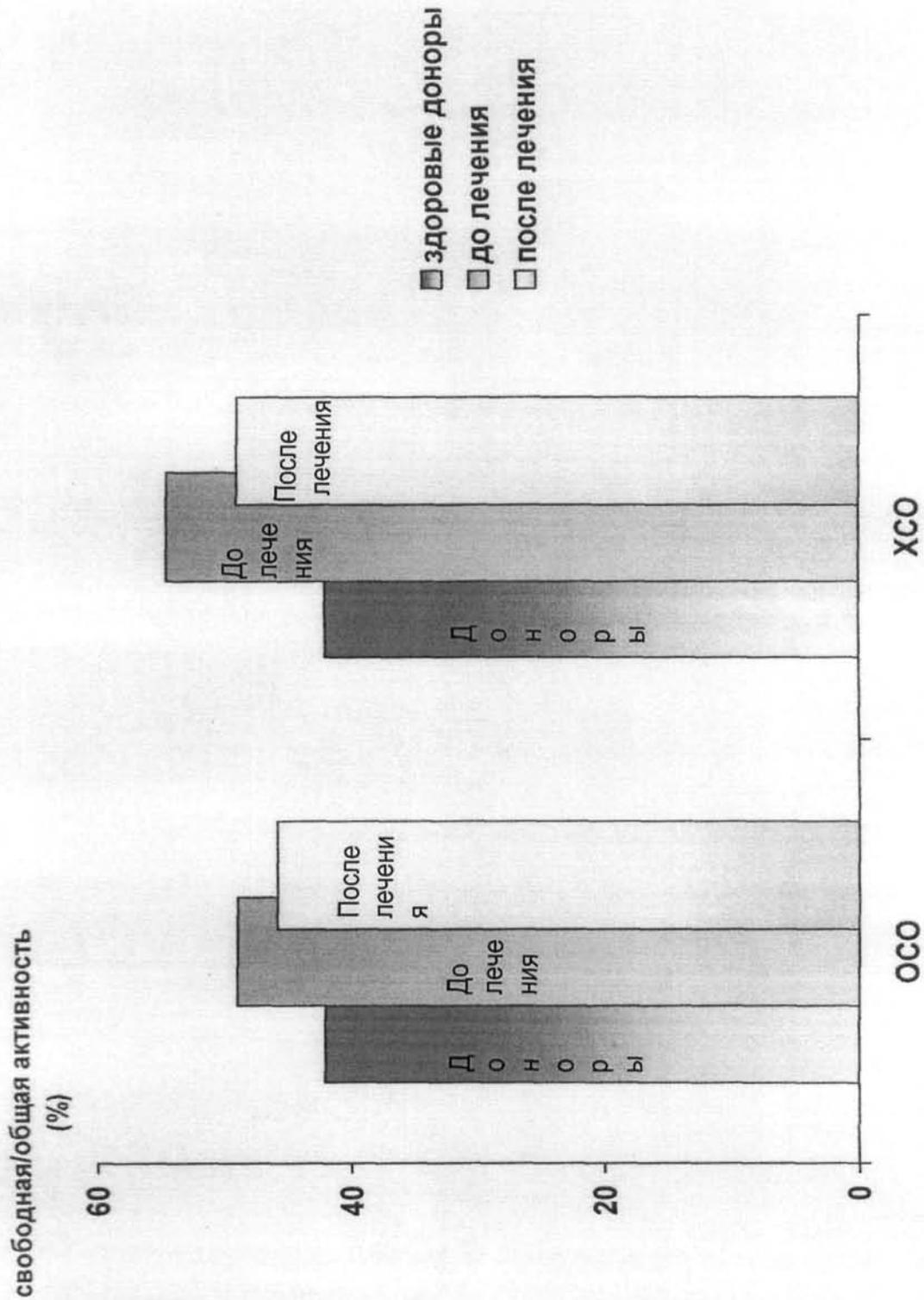


Рис. 14 Изменение активности β -глюкозидазы лейкоциты больных ОСО и ХСО в процессе лечения

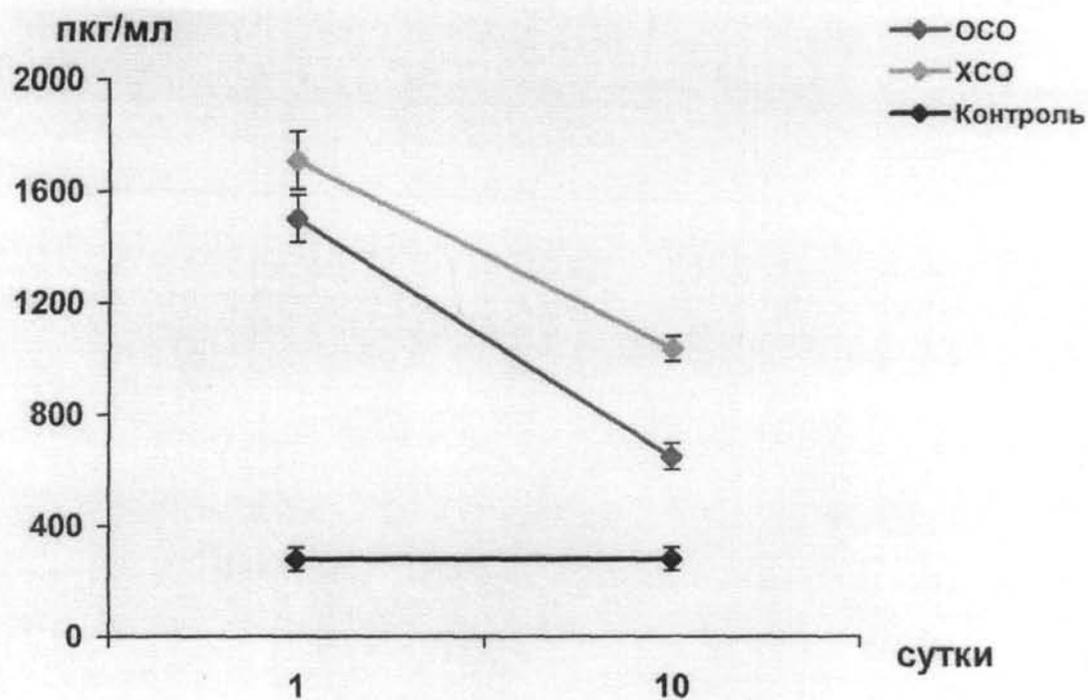


Рис. 15 Динамика выработки ИЛ-1 β у больных ОСО и ХСО

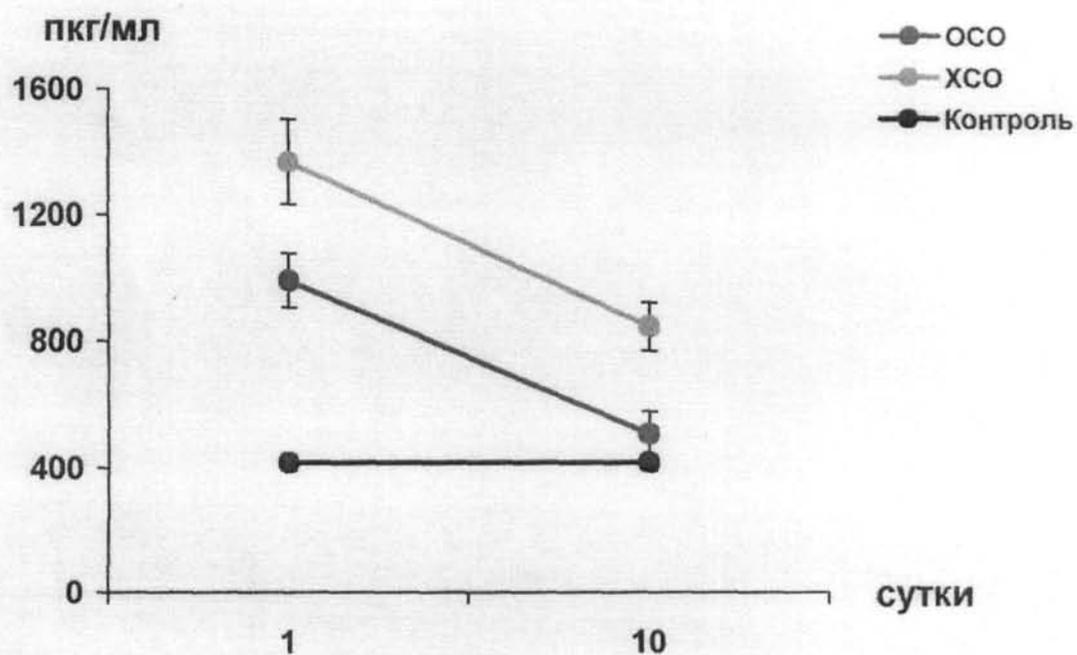


Рис. 16 Динамика выработки ИФн- γ у больных ОСО и ХСО

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на достаточно большое количество работ, посвященных вопросам терапии воспалительных заболеваний среднего уха, выбор тактики лечения остается актуальной научной и практической задачей. Широкое внедрение в клиническую практику высокоэффективных антибактериальных препаратов привело к возникновению новых устойчивых штаммов бактериальной флоры, резистентных к антибиотикам. Значительно усилилась роль условно-патогенной микробной флоры и вирусов в развитии воспалительных заболеваний среднего уха.

В работах последних лет показано, что важное значение в развитии ОСО и ХСО имеет состояние как системных, так и локальных иммунных механизмов. В связи с этим обосновано применение в лечении ОСО и ХСО иммуностропных препаратов, обладающих избирательным действием на иммунную систему.

В последние годы в комплексное лечение воспалительных заболеваний ЛОР-органов включаются иммуномодуляторы цитокиновой природы. На кафедре иммунологии РГМУ разработан новый иммуностропный препарат цитокиновой природы с прямым противомикробным действием – Суперлимф.

В настоящее время накоплен большой опыт локального применения препарата Суперлимф в комплексном лечении острых и хронических синуситов, тонзиллитов, фарингитов. В ряде случаев весьма эффективной оказалась монотерапия Суперлимфом. Так, в работах А.С.Шустицкой, В.Н.Коршиковой и И.В.Снимщиковой разработаны показания применения монотерапии Суперлимфом. Оценка клинической эффективности

препарата показала, что локальное его применение способствует более быстрому и стойкому купированию воспалительного процесса в гайморовых пазухах, значительно сокращает сроки лечения, предотвращает развитие рецидивов и не сопровождается побочными реакциями.

Однако практически отсутствуют работы по топическому применению цитокинов в лечении острых средних отитов и хронических средних отитов. Не разработаны схемы применения цитокинов в комплексном лечении ОСО. Не разработаны критерии проведения монотерапии препаратом Суперлимф и схемы лечения при ХСО.

С учетом изложенного, целью работы явилось клинико-иммунологическое обоснование и оценка терапевтической эффективности цитокинотерапии препаратом Суперлимф у больных ОСО и ХСО.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести комплексное изучение функциональной активности фагоцитов (выработка кислородных радикалов, ферментов лизосом) и содержания цитокинов в плазме крови больных ОСО и ХСО.

2. Разработать схему проведения локальной цитокинотерапии препаратом Суперлимф у больных острыми средними отитами и оценить ее терапевтическую эффективность.

3. Разработать схему монотерапии препаратом Суперлимф у больных хроническими средними отитами и оценить ее терапевтическую эффективность.

4. Исследовать влияние топической цитокинотерапии на динамику показателей системы фагоцитов и уровень цитокинов в плазме крови.

Полиморфно-ядерные лейкоциты (ПЯЛ) являются клетками естественной противомикробной защиты, они играют ведущую роль в индукции воспаления. Эти клетки первыми мигрируют из кровотока в патологический очаг и включают разнообразные механизмы уничтожения микробов. Среди них большое значение имеют кислород-зависимые и кислород-независимые механизмы бактерицидности.

В связи с этим у больных ОСО и ХСО было проведено комплексное изучение функциональной активности ПЯЛ, а именно, исследовалась выработка активных форм кислорода и лизосомальных ферментов (катепсина G и β -глюкозидазы).

По уровню спонтанной хемилюминесценции ПЯЛ больные ОСО распределились на две группы. У 70% пациентов показатели спонтанной ХЛ ПЯЛ превышали показатели здоровых доноров в 2,2 раза, что свидетельствует о значительной активации фагоцитов этой группы больных острым средним отитом. Такая гиперпродукция АФК может вызвать повреждение окружающих тканей и генерацию воспалительной реакции.

В то же время у 30% больных ОСО спонтанная ХЛ не отличалась от группы здоровых доноров.

Наряду с генерацией активных форм кислорода ПЯЛ была изучена активность ферментов, оказывающих прямое противомикробное действие. Среди них - сериновые протеиназы, получившие название «катепсин G». Воздействие катепсина G на микробы сопровождается нарушением синтеза белка, молекул

РНК, ДНК, целостности мембраны, что, в конечном счете, приводит к гибели микробной клетки.

Другой изученный фермент лейкоцитов - β -глюкозидаза - расщепляет кислые гликозаминогликаны некротизированных клеток и бактерий. У больных ОСО активность катепсина G достоверно выше по сравнению со здоровыми донорами. Повышение активности сериновой протеиназы – катепсина G в лейкоцитах свидетельствует об участии этих клеток в остром воспалительном процессе, и может рассматриваться как один из механизмов естественного иммунитета.

Моноциты больных ОСО вырабатывали значительно больше ИЛ-1 β в культуральной среде. Не исключено, что это явилось одной из причин изменения баланса цитокинов, а именно, повышению уровня ИЛ-1 β в плазме крови больных ОСО и ХСО. Концентрация ИЛ-1 β в плазме больных ОСО в 5 раз превосходила показатели здоровых доноров.

Выявленные изменения функциональной активности клеток фагоцитарной системы, а именно, бактерицидных механизмов защиты, таких как: генерация кислородных радикалов, активация лизосомальных ферментов лейкоцитов избыточная продукция ИЛ-1 β моноцитами в ответ на ЛПС бактериального происхождения, дисбаланс в системе цитокинов - все это определяет назначение иммуотропной терапии как патогенетически обоснованного метода лечения.

Топическая цитокиноterapia заключается в локальном применении цитокинов в зоне развития иммунопатологического процесса. Локальное применение цитокинов позволяет обеспечить точность их доставки к клеткам-мишеням,

продолжительность действия, активировать иммунные механизмы на уровне слизистой, избежать системных осложнений. В лечении воспалительных заболеваний ЛОР-органов накоплен большой опыт локального применения цитокинов.

Топическая цитокиноterapia была применена нами в лечении 66 больных, из них у 30 больных острым средним отитом и у 36 больных хроническим средним отитом (мезотимпанитом). Контрольную группу составили 30 пациентов (20 - больных ОСО, 10 - больных ХСО), получавших традиционную терапию.

Разработана схема локального введения Суперлимфа в полость среднего уха. Препарат в виде раствора вводился транстимпанально путем нагнетания по 0,5 мл (50 мкг) раствора в барабанную полость 2 раза в день в течение 5-7 дней. Суперлимф также вводился эндоурально на турунде на ночь (доза-50 мкг/в 0,5 мл). Курс лечения составил 5-7 дней. В группе больных с неперфоративным острым средним отитом проводилась катетеризация слуховой трубы и введение 0,5 мл раствора Суперлимфа (в концентрации 50 мкг/мл) в слуховую трубу 1 раз в день в течение 5-ти дней.

Эффективность действия Суперлимфа у больных ОСО оценивали по клиническим симптомам (температура, боль в ухе, нарушение слуха) и объективным данным (гиперемия барабанной перепонки, изменение характера и количества отделяемого, наличие перфорации, данные аудиометрии, сроки купирования воспаления). Для количественной оценки эффективности локальной цитокинотерапии использовали бальную систему на 1-е, 3-е, 5-е, 7-е, 10-е, 12-е и 14-е сутки лечения.

Комплексное применение Суперлимфа и антибиотиков больным ОСО приводило к более быстрой нормализации температуры тела и исчезновению боли в ухе - на 3 - 4-е сутки, по сравнению с базисной терапией. При комбинированной терапии Суперлимфом отделяемое из барабанной полости прекращалось в среднем на 6-ой день. При этом уменьшалась выраженность гиперемии барабанной перепонки, перфорация полностью закрывалась на 7-й день, в контрольной группе – лишь на 9 - 10 день. Эти результаты свидетельствуют о более быстром купировании воспалительного процесса в полости среднего уха при локальном применении препарата цитокинов Суперлимф. Выявлено, что сроки купирования воспаления в полости среднего уха сокращались в среднем на 2 дня по сравнению с группой, получавшей базисную терапию.

Таким образом, Суперлимф в комплексном лечении больных ОСО вызывает более раннее купирование воспаления в полости среднего уха, стимулирует процессы репарации барабанной перепонки, способствует быстрому восстановлению слуха у пациентов. Эффективность препарата Суперлимф в лечении ОСО обусловлена комплексом природных про- и противовоспалительных цитокинов, входящих в его состав, а также прямым противомикробным действием препарата (19).

Сочетанное применение антибиотиков на ранних стадиях воспалительного процесса в комплексе с препаратом цитокинов Суперлимф оказалось эффективным, так как в этом случае по возбудителю наносится «двойной удар»: антибиотик понижает функциональную активность микроорганизма, а иммуномодулятор повышает функциональную активность

фагоцитов. За счет этого достигается более эффективная защита и элиминация возбудителя.

Сочетанное применение топической цитокинотерапии препаратом Суперлимф и антибиотиков приводило к восстановлению функциональной активности фагоцитов. Препарат оказывал иммуномодулирующее действие на выработку кислородных радикалов: приводил к норме исходно высокие показатели ХЛ-ответа и не влиял на нормальную выработку активных кислородных радикалов. После проведенного лечения показатели кислородного метаболизма нейтрофилов быстро возвращались к нормальным значениям.

Следует отметить, что в группе пациентов, получавших стандартное лечение, повышенный уровень хемилюминесцентного ответа ПЯЛ сохранялся и на 10 день наблюдения. Индекс стимуляции был равен 7,9. Это свидетельствует о более медленном затухании воспалительного процесса у пациентов этой группы.

На фоне локальной цитокинотерапии Суперлимфом наблюдалось также снижение активности лизосомальных ферментов лейкоцитов: β -глюкозидазы, катепсина G и уровня цитокинов в сыворотке крови больных ОСО и, в меньшей степени, ХСО.

В группе больных хроническими средними отитами (мезотимпанитами) нами были выявлены системные изменения в иммунной системе, в частности, гиперактивация фагоцитов в ответ на стимулятор – опсонизированный зимозан, повышенное содержание провоспалительных цитокинов в плазме. В связи с этим этой группе больных Суперлимф применялся в виде

монотерапии локально (как при ОСО) и в виде ректальных суппозиторий через день, числом 5.

Для монотерапии Суперлимфом больных ХСО были разработаны следующие критерии отбора:

- возраст старше 16 лет;
- обострение гнойного мезотимпанита;
- частота обострений более 1 раза в год;
- нормальная или субфебрильная температура тела;
- отсутствие отогенных внутричерепных осложнений.

Показан положительный клинический эффект избранной тактики лечения пациентов с гнойным мезотимпанитом, который главным образом заключался в полной отмене антибиотиков. У лиц пожилого возраста с компромитированной иммунной системой это было особенно целесообразно. Выраженность симптомов воспалительного процесса в полости среднего уха на 7-е сутки после лечения Суперлимфом составила $2,2 \pm 0,4$ балла. У больных контрольной группы, получавших базовое лечение она была несколько выше и равнялась $3,5 \pm 0,6$ балла. Регрессия местного воспалительного процесса в этой группе больных ХСО происходила медленнее. Помимо этого Суперлимф, как иммуномодулирующее средство, активировал функцию клеток фагоцитарной системы, тем самым повышал иммунологические механизмы противомикробной защиты.

После проеденного курса цитокинотерапии препаратом Суперлимф у больных ХСО отмечалась нормализация хемилюминесцентного ответа лейкоцитов периферической крови и снижение уровня ИЛ-1 β и ИФН γ в сыворотке крови.

Таким образом, разработанная нами схема монотерапии мезотимпанитов способствовала более быстрому купированию воспалительного процесса в барабанной полости и полному исключению антибиотиков из схемы лечения пациентов.

Выводы

1. Воспалительный процесс в полости среднего уха сопровождается изменением функциональной активности клеток фагоцитарной системы: увеличением активности лизосомальных ферментов (катепсина G и β -глюкозидазы), повышением синтеза ИЛ-1 β моноцитами, увеличением спонтанной продукции кислородных радикалов у 70% больных ОСО.

В плазме крови больных ОСО и ХСО значительно повышены концентрации интерлейкина-1 β и интерферона- γ .

2. Топическая цитокиноterapia препаратом Суперлимф является эффективным методом в комплексном лечении больных ОСО, способствующим более раннему купированию воспаления в полости среднего уха, стимуляции процессов репарации барабанной перепонки и более быстрому восстановлению слуха у пациентов.

3. Монотерапия препаратом Суперлимф больных мезотимпанитом способствует более быстрому купированию воспалительного процесса в барабанной полости и позволяет полностью исключить антибиотики из схемы лечения.

4. Цитокиноterapia препаратом Суперлимф приводит к более быстрому восстановлению функциональной активности фагоцитов и снижению уровня ИЛ-1 β и ИФН- γ в плазме крови больных ОСО и ХСО.

Практические рекомендации

1. Топическую цитокинотерапию препаратом Суперлимф целесообразно применять в комплексном лечении ОСО с целью ускорения купирования воспалительного процесса в полости среднего уха, стимуляции процессов репарации барабанной перепонки и более быстрого восстановления слуха.

2. Больным острыми средними гнойными отитами Суперлимф рекомендовано вводить транстимпанально путем нагнетания по 0,5 мл раствора (50 мкг) в барабанную полость 2 раза в день в течение 5 - 7 дней, а также эндоурально на турунде на ночь в той же дозе. Длительность курса лечения – 5 - 7 дней.

3. Больным острыми средними неперфоративными отитами препарат Суперлимф рекомендовано вводить в слуховую трубу после ее катетеризации по 0,5 мл раствора (в концентрации 50 мкг/мл) 1 раз в день в течение 5 дней.

4. Больным мезотимпанитом препарат Суперлимф целесообразно применять в качестве монотерапии, локальное введение проводится по схеме, описанной для острых гнойных средних отитов. Кроме того, возможно использование препарата Суперлимф в форме суппозиторий ректально (через день по одной свече, курсовая доза - 5 свечей).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антонив В.Ф., Кравченко Д.В., Кравченко А.В. - Изменение общего и местного иммунитета у больных с острыми и хроническими гнойными синуситами под воздействием регионарной лимфотропной иммуностимулирующей терапии. // Вестник оториноларингологии, 1998, №3. стр. 28 – 30;

2. Арефьева Н.А., Медведев Ю.А., Фазылыева Р.М. - Иммунология, иммунопатологии и проблемы иммунотерапии в ринологии. // Под ред. Н.А. Арефьевой, Уфа: Башкорстан, 1997. стр. 120;

3. Беляков И.М. - Иммунная система слизистых. // Иммунология, 1997, №4. стр. 7 – 12;

4. Богомильский М.П. – Значение среднего отита для педиатрической практики и вопросы диагностики. // Международная конференция «Антибактериальная терапия в педиатрической практике»; 25 – 26 мая, М., 1999. стр. 33 - 36;

5. Богомильский М.П., Гаращенко Т.И., Радциг Е.Ю. и др. – Опыт применения препарата ИРС-19 в лечении острых заболеваний верхних дыхательных путей у детей. // Российская ринология, 2001, №2. стр. 17 -19;

6. Быкова В.П. – Лимфоэпителиальные органы в системе местного иммунитета слизистых оболочек. // Архив патологии, 1995, вып. №1. стр. 11 – 16;

7. Быкова В.П. - Структурные основы мукозального иммунитета верхних дыхательных путей. // Российская ринология, 1999, №1. стр. 5 – 9;

8. Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П. – Хемилюминесценция клеток животных. // Итоги науки и техники, Биофизика, М., ВИНТИ, 1989, Т. 24. стр. 1 – 176;

9. Ганковская Л.В. - Иммуноцитокнины: регуляция функций макрофагов, локальная иммунокоррекция. // Докторская диссертация, М., 1993;

10. Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В. - Локальная цитокиноterapia: от механизма в клинику. // Российская иммунология, 1999, Т. 4, №1. стр. 62;

11. Гаращенко Т.И. – Современные методы иммунотерапии синуситов у дкткй. // Заболевания носа и придаточных пазух у детей (труды 2 МОЛГМИ), М, 1985, с. 30 – 37;

12. Горо Моги, Сатору Кодама. - Иммунная система слизистой оболочки верхних дыхательных путей: от базовых принципов к назальным вакцинам. // Российская ринология, 2000, №2. стр. 4 – 11;

13. Дайхес Н.А., Решульская А.С., Махачева Х.Г. и др. Комплекс природных цитокинов в лечении больных с воспалительными заболеваниями лор-органов и лор-онкологии. //Международный журнал по иммунореабилитацию. 2000. стр. 9;

14. Егорова В.Н., Плужников М.С., Лавренова Г.В. – Монотерапия острых гнойных синуситов при местном применении Ронколейкина – рекомбинантного интерлейкина-2 человека. // TERRA MEDICA, 2000, №1(17). стр. 29 – 31;

15. Караулов А.В. Влияние рулида и модивида на иммунную систему. // Russian J. Immunol. 1997. №2. стр. 88-91;

16. Кетлинский С.А. - Современные аспекты изучения цитокинов. // Журнал «Российская иммунология», 1999, Т. 4, №1 р. 46 – 52;

17. Кетлинский С.А., Калинина Н.М. – Цитокины мононуклеарных клеток в реакции воспаления и иммунитета. // Иммунология, 1995, №3. стр. 30 – 44;

18. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. - Эндогенные иммуномодуляторы. // СПб, Изд. Гиппократ. 1992;

19. Ковальчук П.В. Ганковская А.В, Мороз Л.Ф и др. – Подходы к разработке нового лекарственного препарата на основе противомикробных пептидов и цитокинов. // Аллергия, астма и клиническая иммунология, 2003, №4. стр. 27 – 32;

20. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. - Природная композиция цитокинов (суперлимф) в топической иммунокоррекции. //Аллергия, астма и клиническая иммунология, 2000, №7. стр. 25 - 28;

21. Ковальчук Л.В. Ганковская Л.В., Мороз А.Ф. Иммуномодулятор с прямым противомикробным действием. // Вестник РГМУ, 2003, № 5, стр. 15 – 19;

22. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Клебанов Г.И. и др. - Механизмы цитокин-индуцированной активности фагоцитов. // Журнал «Российская иммунология», 1999, Т. 4, приложение 1. стр. 36;

23. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Никанкина Л.В. и др. – От аутолимфокинотерапии к контролируемому препарату комплекса цитокинов – Суперлимфу. // Аллергия астма и клиническая иммунология, Москва, 2001, №6. стр. 28 – 33;

24. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Рубакова Э.И. - Система цитокинов. // Методические рекомендации, М., 1999. стр. 1 – 78;

25. Ковальчук Л.В., Павлова К.С., Ганковская Л.В. и др. - Иммуномодулирующее действие естественного комплекса цитокинов на пролиферацию лимфоцитов и активность киллеров человека *in vitro*. // Иммунология, 2000, №2. стр. 32 – 36;

26. Ковальчук Л.В., Сайгитов Р.Т. – Хемокины – новое семейство цитокинов, регулирующих миграцию лейкоцитов. // ЖМЭИ, 2000, №1. стр. 90 – 94;

27. Кокряков В.Н., Стефанов В.Е., Алешина Г.М. и др. Дефенсины и родственные им антибиотические пептиды в эволюции защитных систем животных. // Журн. Эволюц. Биохимии и физиологии. 1977. Т.33, №1. стр. 109-123;

28. Коновалова М.И. – Топическая аутоцитокинотерапия в лечении больных поллинозом. // Автореферат кандидатской диссертации, Москва, 1999. - 24 с.;

29. Коршиков В.Н. - Эффективность цитокинотерапии при острых воспалительных заболеваниях верхнечелюстных пазух. // Курский государственный медицинский университет, Автореферат кандидатской диссертации, Курск, 2000. 22 с.;

30. Кузнецов В.П., Караулов А.В. – Лейкинферон – механизмы терапевтического действия и тактика иммунокоррекции. // International J. Immunorehabilitation, 1998, №10. стр. 66 – 75;

31. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. - Очерки о нейтрофиле и макрофаге. // Новосибирск, Наука, 1989. стр. 21 – 25;

32. Маянский А.Н., Пикуза О.И. - Клинические аспекты фагоцитоза. // Казань, Магариф, 1993. стр. 192;

33. Маянский Д.Н., Цырендожиев Д.А., Рупакова С.А. – Лизосомальные ферменты фагоцитирующих клеток в патогенезе воспаления. // Вопросы медицинской химии, 1987, Т 33, №5. стр. 45 – 52;

34. Меньшиков В.В. – Лабораторные методы исследования в клинике. // М., Медицина, 1987, стр. 117;

35. Мешкова Р.Я., Слабкая Е.В., Рафальский В.В. – Уровень ИЛ-1 и ФНО α в сыворотке крови больных при локальной аутоцитокинотерапии. // Сборник трудов 1-ой Национальной конференции РААКИ, М, 1997. стр. 297;

36. Мишенькин Н.В., Глущенко А.Г. Патоморфоз острого среднего отита (диагностика и терапия). // Современные методы диагностики и лечения в оториноларингологии; Респ. сб. тр. –М., 1981. Вып. 27. стр. 98-102;

37. Никанкина Л.В. – Особенности цитокин-зависимой регуляции кислородного метаболизма фагоцитов. // Автореферат кандидатской диссертации, Москва, 2001. - 20 с.;

38. Овчинников Ю.М., Свистушкин В.М. - Механизмы патогенеза воспаления органов дыхательного тракта и некоторые аспекты медикаментозной коррекции. // Российская ринология. 1999, №1. стр. 10 – 12;

39. Овчинников Ю.М., Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н. – Рациональное местное лечение при воспалительных заболеваниях верхних дыхательных путей. // Инфекции и антимикробная терапия, Т. 2, №6, 2000. стр. 21 - 23;

40. Омеров М.М., Пидаев А.В., Игнатонис И.П. – Некоторые патогенетические и клинико-иммунологические взаимосвязи патологии верхних и нижних дыхательных путей // Российская ринология – 1996, №2-3. стр.19-20;

41. Пальцев М.А., Иванов А.А. – Межклеточные взаимодействия. // М, 1995;

42. Петров Р.В., Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. - Иммунодиагностика иммунодефицитов. // Иммунология, 1997, №4. стр. 4 – 7;

43. Пигаревский В.Е. Гипотеза о резорбтивной клеточной резистентности как особой форме антимикробной защиты организма. //Арх. патологии. 1992 Вып. 8. стр. 40-45;

44. Пигаревский В.Е. Новое в клинико-морфологической оценке функционального состояния нейтрофильных гранулоцитов. // Клиническая морфология нейтрофильных гранулоцитов. Л., 1988. стр. 3-11;

45. Пинегин Б.В. принципы применения иммуномодуляторов в комплексном лечении инфекционных процессов. //Лечащий врач, Октябрь, 2000, №1. стр. 34 - 36;

46. Пискунов С.З., Завьялов Ф.Н., Ерофеева Л.Н. - Исследование мукоцилиарной транспортной системы слизистой оболочки носа у здоровых лиц. // Российская ринология, 1995, №3 – 4. стр. 60 – 62;

47. Покровский В.И., Лебедев В.В., Шелепова Т.М. и др. Иммунофан – пептидный препарат нового поколения в лечении инфекционных и онкологических заболеваний: свойства. Область применения. //Практикующий врач. 1998. №12. стр. 14-15;

48. Покровский А.А., Тутельян В.А. – Лизосомы. // М, Наука, 1976, стр. 53 - 79, стр. 180 – 187;

49. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. – Иммунология. // М, Мир, 2001. - 182 с.;

50. Руководство по оториноларингологии // Под ред. И.Б. Солдатова. 2-е изд., перераб. и доп. – М., Медицина. - 1997. – 608 с.;

51. Сайгитов Р.Т. – Комплексный анализ миграции, эффекторной функции и апоптоза нейтрофилов человека. // Автореферат кандидатской диссертации, Москва, 2001. – 18 с.;

52. Симбирцев А.С. – Новые подходы к клиническому применению рекомбинантного интерлейкина-1 β человека. // Медицинская иммунология, 1999, Т 1, №1 – 2. стр. 141 – 146.

53. Слабкая Е.В. - Иммунобиологические свойства и клиническая эффективность ФГА- и лазер-индуцированных цитокинов у больных с вторичной иммунной недостаточностью. // Автореферат кандидатской диссертации, Смоленск. 1999. – 20 с.;

54. Слабкая Е.В., Мешкова Р.Я., Ганковская Л.В. - Способ терапии хронических тонзиллитов и фарингитов. // Патент №2123362, от 20. 12. 98;

55. Снимщикова И.А. – Иммунопатогенетическая и клиническая характеристика эффективности локальной иммунокоррекции при некоторых гнойно-воспалительных заболеваниях. // Автореферат докторской диссертации, Курск, 2001. – 27 с.;

56. Тареева Т.Г., Брагина Г.С., Малиновская В.В., Романцов М.Г. – ВИФЕРОН – рекомбинантный α_{2B} -ИФН: применение в педиатрии. // Руководство для врачей и фармацевтов. М, 1997. – 220 с.;

57. Тотолян А.А. - Современные подходы к диагностике иммунопатологических состояний. Медицинская иммунология, 1999, т. 1, №1 – 2. стр. 75 – 108;

58. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. - Клетки иммунной системы. СПб, Наука, 2000. стр. 231;

59. Тутельян В.А., Васильев А.В. – Лизосомы в деятельности клетки. // Физиология и патология. Вестник АМН СССР, 1990, №2. стр. 14 – 21;

60. Фрейдлин И.С. - Ключевая позиция макрофагов в цитокиновой регуляторной сети. // Иммунология 1995, №3. стр. 44 – 48;

61. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммуномодуляторы и некоторые аспекты их клинического применения. // Клиническая медицина. 1996. №8. стр. 7-12;

62. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. - Вторичные иммунодефициты: клиника, диагностика, лечение. // Иммунология, 1999, №1. стр. 14 – 17;

63. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. – Современные представления о защите организма от инфекции. // Иммунология, 2000, №1. стр. 61 – 64;

64. Хараева З.Ф. Свободно-радикальный статус фагоцитов больных стафилококковой инфекцией: регуляция цитокинами и антиоксидантами. // Докторская диссертация, М, 2003;

65. Шичкин В.П. – Патогенетическое значение цитокинов и перспективы цитокиновой/антицитокиновой терапии. // Иммунология, 1998, №2. стр. 9 – 12;

66. Шустецкая А.С. Особенности функциональной активности фагоцитов и цитокинов у больных острым верхнечелюстным синуситом. Локальная цитокинотерапия. // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Москва. 2002. – 19 с.;

67. Щегловитова О.Н., Романов Р.А., Максянина Е.В. и др. Аллергология и иммунология, 2000, Т. 1. стр. 131;

68. Юдина С.М., Снимщикова И.А. – Клиническая эффективность локальной цитокинотерапии у больных хроническим тонзиллитом. // Медицинская иммунология, 2000, №4. стр. 23 – 27;

69. Юдина С.М., Снимщикова И.А., Пискунов С.З., Коршиков В.Н. – Клиническая эффективность препаратов цитокинов в комплексном лечении больных с воспалительными заболеваниями верхнечелюстных пазух. // Российская ринология, 1999, №1. стр. 52 – 53;

70. Юдина С.М., Пискунов С.З., Снимщикова И.А., Коршиков В.Н. - Локальная цитокинотерапия острых гайморитов: методические рекомендации для студентов и врачей, занимающихся проблемами современной иммунологии и ЛОР-патологии. // Курский государственный медицинский университет, Курск, 2001. – 25 с.;

71. Юдина С.М., Снимщикова И.А., Архипова А.В. – Микробиологические аспекты антибактериальной активности

препарата Суперлимф. // Медицинская иммунология, 2001, Т. 3, №4. стр. 239 – 240;

72. Юдина С.М., Снимщикова И.А., Баранова В.В. – Иммуномодулирующее влияние препарата Суперлимф на функциональную активность нейтрофилов. // Медицинская иммунология, 2001, Т. 3, №4. стр. 303 – 304;

73. Юдина С.М., Снимщикова И.А., Коршиков В.Н. – Иммунный статус больных с воспалительными заболеваниями верхнечелюстных пазух. // Российская ринология, 1998, №2. стр. 19 – 20;

74. Юдина С.М., Яковлева А.В. и др. – Экспериментальное обоснование применения препаратов цитокинов при апоптотических иммунодефицитах. // Научно-практический вестник «Человек и здоровье», Курск, 1998, №1. стр. 74 – 77;

75. Ярилин А.А. - Основы иммунологии. // М., Изд. Медицина, 1999. – 356 с.;

76. Ярилин А.А. - Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии. // Иммунология 1997, №5. стр. 7 – 14;

77. Bernstein J.M, Tsutsumi H, Ogra P.L. The middle ear mucosal immune system in otitis media with effusion. Am J Otolaryngol 1985 May-Jun;6(3):162-8;

78. Blahova O., Fedova D., Syracek L. “Virusinfectionen bei den akuten Mittelohrentzündungen der Kinders. // Laryngol. Rhinol. – 1980, Bd. 50, №1, s. 66-71;

79. Boyum A. - Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood Isolation of mononuclear cells by combining

centrifugation and sedimentation. // Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1968, №20, p. 77;

80. Brandizaeg P., Jahnsen F.L., Forstad I.N., - Immune functions and immunopathology of the upper respiratory pathways. // Acta Otolaryngol., 1996, Vol. 116, p. 149 – 159;

81. Brandtzaeg P. – Immunocompetent cells of the upper airway: functions in normal and diseased mucosa. // Eur. Arch. Otolaryngol., 1995, Vol. 252, Suppl, p. 8 – 21;

82. Brandtzaeg P., Jahnsen F.L., Forstad I.N. – Immune functions and immunopathology of the mucosa of the upper respiratory pathways. // Acta Otolaryngol. (Stockh.), 1996, Vol. 116, p. 149 – 159;

83. Constant S.L., Bottomly K. - Induction of Th1 and Th2 CD4⁺ T cell responses. The alternative approaches. // Annu Rev Immunol. 1997, 15, p. 297 – 322;

84. Cook H.T., Cattel V. – Role of nitric oxide in immune-mediated diseases. // Clin. Science, 1996, V. 91, p. 375 – 384;

85. Denis M. – Human monocytes/macrophages NO or no NO. // J. Leukoc. Biol, 1994, 55 (5), p. 642 – 644;

86. Dinarello C.A. – Biology of interleukin-1. // FASEBJ, 1988, V 2, p. 108 – 115;

87. Forseni M, Bagger-Sjoback D, Hultcrantz M. A study of inflammatory mediators in the human tympanosclerotic middle ear. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2001 May;127(5):559-64;

88. Forseni M, Hansson G.K, Bagger-Sjoberg D, Hultcrantz M. Infiltration of immunocompetent cells in the middle ear during acute otitis media: a temporal study. *Am J Otol* 1999 Mar; 20(2):152-7;

89. Himi T, Suzuki T, Kodama H, Takezawa H, Kataura A. Immunologic characteristics of cytokines in otitis media with effusion. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 1992 Oct; 157:21-5;

90. Hiroi T., Iwatani K., Iijima H. – Nasal immune system: distinctive Th0 and Th1/Th2 type environments in murine nasal-associated lymphoid tissues and nasal passage, respectively. // *Eur. J. Immunol.*, 1998, Vol. 28, h. 3346 – 3353;

91. Kamimura M, Himi T, Kataura A. In vitro regulation of neutrophil migration by beta 2 integrins (LFA-1 and Mac-1) in patients with otitis media. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1997;254(3):150-2;

92. Kariya S, Okano M, Aoji K et al. “Role of Macrophage Migration Inhibitory Factor in Otitis Media with Effusion in Adults.” *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, Vol. 10 №3, p. 417-422, May, 2003;

93. Kenna M.A., Bluestone Ch.D., Reilly J.S. et al. “Medical management of chronic suppurative otitis media without cholesteatoma in children. // *Laryngoscope* (St. Louis) – 1986. - v. 96, №2, p. 146-151;

94. Kraehenbuhl J.P., Neutra M.R. – Molecular and cellular basis of immune protection of mucosal surfaces. // *Physiol. Rev.*, 1992, Vol. 72, p. 853 – 879;

95. Kuper C.F., Koonstra P.J., Hamelers D.M.H. - The role of nasopharyngeal lymphoid tissue. // *Immunology Today*, 1992, Vol. 13, p. 219 – 223;

96. Lehrer R.I., Barton K.A., Daher S.S. et al. "Mechanism of bactericidal activity." *J. Clin. Invest.* Vol. 84, №2, p. 553-561, 1989;

97. Lehrer R.I., Ganz T., Selsted M.E. – Defensins: Endogenous antibiotic peptides of Animal Cells. // *Cell*, Vol. 64, p. 229 – 230;

98. Nagata S. – Apoptosis by death factor. // *Cell.*, 1997, Vol. 88, p. 355 – 365;

99. Ratell V., Tappel A.L. - β -glucosidase and xudodase of rat kidney. // *Biochem. Biophys. Acta*, 1969, V. 191, №3, p. 653 – 662;

100. Stierna P., Jannert M. – Current opinions on the pathogenesis of sinusitis. The importance of local inflammatory response and ostial patency. // *Proceeding of a workshop: Lund, Sweden, 1993, August 27, Acta Otolaryngol., (Stockh.), Vol. 515, p. 1 – 64;*

101. Takahashi K., Edagishe K., Sato E.F. – Luminol chemiluminescence and active oxyhen generation by activated neutrophils. // *Arch. Biochem. Biophys.*, 1991, V. 285, №2, p. 325 – 330;

102. Tomasi T. – The discovery of secretory IgA and the mucosal immune system. // *Immunology Today*, 1992, Vol. 13, p. 416 – 421;

103. Tong H.H., Chen Y., James M., Van Deusen J., Welling D.B., DeMaria T.F. Expression of cytokine and chemokine genes by human middle ear epithelial cells induced by formalin-killed

Haemophilus influenzae or its lipooligosaccharide htrB and rfaD mutants. Infect Immun 2001 Jun;69(6):3678-84;

104. Van Eeden S., Hogg J.C. – The role of the neutrophil in inflammatory disease. // Lung & Respiration, 1994, Vol. 11, №2, p. 11 – 14;

105. Yang D., Biragyn A., Kwak L.W., et al. “Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal.” Trends in immunology. Vol. 23, №6, p. 291-296, June 2002;

106. Zasloff M. “Antimicrobial Peptides in Health and Disease.” N Engl J Med, Vol. 347, №15, p. 1199-1200, October 10, 2002.