

УДК 616.211 – 002.2; 616.216.1 – 002

**ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ АУТОЛЕЙКОЦИТОВ
В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ ГНОЙНЫХ РИНОСИНОСИТОВ****Егорова Е.В., Пересторонин В.И., Цыбиков Н.Н.***ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия»,**Чита, e-mail: egorovaelen@mail.ru*

Предложена оригинальная методика лечения хронического гнойного риносинусита, основанная на предварительной экстракорпоральной активации аутолейкоцитов. Выяснилось, что предлагаемый способ терапии, по сравнению с традиционным лечением, сопровождается быстрой санацией околоносовых пазух у больных с хроническим гнойным риносинуситом (ХГРС). После лечения у пациентов в системном кровотоке увеличивается количество как про-, так и противовоспалительных цитокинов, вследствие активации цитокин-продуцирующих клеток инфекционными агентами, проникающими в сосудистое русло из местного воспалительного очага, а в назальном секрете существенно снижается концентрация IL-1 β , IL-6, IL-8. Уровень аутоантител (аАт) к противовоспалительным цитокинам (IL-4, IL-10) возрастает в сыворотке крови, а в назальном секрете, напротив, отмечается снижение уровня аАт к указанным интерлейкинам, что свидетельствует в пользу незначительной местной элиминации противовоспалительных цитокинов на конечных этапах воспалительной реакции. В комплексе выявленные сдвиги могут свидетельствовать о быстром купировании местного воспалительного процесса.

Ключевые слова: аутолейкоциты, хронический гнойный риносинусит, иммунотерапия**EXTRACORPOREAL STIMULATION OF AUTOLOGOUS LEUKOCYTES
IN CHRONIC PURULENT RHINOSINUSITIS****Egorova E.V., Perestoronin V.I., Tsybikov N.N.***Chita State Medical Academy, Chita, e-mail: egorovaelen@mail.ru*

An original technique for treatment of chronic purulent rhinosinusitis, based on pre-activated extracorporeal autologous leukocytosis presented. It was determined that the proposed method of treatment, compared with the traditional one, is accompanied by a rapid readjustment of the paranasal sinuses in patients with chronic purulent rhinosinusitis (HPRS). After treatment, in the systemic circulation the number of pro- and anti-inflammatory cytokines is increased, due to activation of cytokine-producing cells by infectious agents that penetrate into the bloodstream from the local inflammatory focus, with the concentration of IL-1 β , IL-6, IL-8 being reduced significantly in nasal secretions. Levels of autoantibodies (AAT) to the anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10) increases in serum and nasal secretions, on the contrary, there is reduction of the AAT to these interleukins, which contributes to small elimination of local anti-inflammatory cytokines in the final stages of the inflammatory reaction. Thus, identified changes may indicate a rapid control of the local inflammatory process.

Keywords: autologous leukocytes, chronic purulent rhinosinusitis, immunotherapy

В настоящее время наблюдается прогрессирующий рост распространённости заболеваний носа и околоносовых пазух. Воспаление верхнечелюстной пазухи является одной из самых распространённых ЛОР-патологий, как на территории РФ, так и за ее пределами. Так, в России пациенты с гайморитом составляют 20–30% среди всех госпитализированных в ЛОР-отделения. Еще более значительный удельный вес (до 40%) занимает синусит среди амбулаторных пациентов ЛОР-кабинетов больниц и поликлиник. Многие исследователи указывают на то, что уровень заболеваемости не имеет тенденции к снижению, лечение проводится не всегда адекватно, растет число случаев острого риносинусита, который переходит в хроническую форму. [1, 2, 4, 5, 6, 11]. Зачастую применяются массивные и длительные курсы антибиотикотерапии, способные вызвать множество осложнений, таких как дисфункция желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и печени, развитие резистентности к патогенным микроорганизмам, аллергические реакции, нефротоксичность, фото-

сенсбилизацию, эмболию, ототоксичность [7, 12]. Хорошо известно, что лечение больных хроническим гнойным риносинуситом (ХГРС), который плохо поддается или не поддается медикаментозному и хирургическому лечению, является серьезной проблемой, хотя в настоящее время, спектр лечебных мероприятий при данной патологии очень широк и включает антибиотикотерапию, применение деконгестантов, орошение полости носа соляными растворами, использование назальных и системных кортикостероидов [3, 10]. На этом фоне актуальным является поиск способа, позволяющего уменьшить сроки лечения и избежать развития осложнений, связанных с дефектами местного звена иммунитета.

Цель работы – выяснить эффективность предложенного принципа лечения хронического гнойного риносинусита.

Материалы и методы исследования

За основу предлагаемого нами метода лечения был взят запатентованный способ, разработанный Н.Ю. Логиной «Способ лечения хронических реци-

дивизирующих заболеваний слизистой носа и околоносовых пазух методом эндоназальной аутолимфоцитотерапии» (патент RU 2403071 C1), включающий получение аутологических лимфоцитов из венозной крови больного, их культивирование совместно с иммуномодулятором и введение в придаточные пазухи носа, посредством установленного ЯМИК-катетера, после предварительной эвакуации содержимого. Ввиду сложности и дороговизны процесса получения аутологических лимфоцитов было предложено некоторое упрощение указанной методики. Ежедневно, на протяжении всего курса лечения, у пациентов в утренние часы забирали кровь из локтевой вены в пробирки с гепарином. В полученные образцы добавляли 0,01%-й раствор тимогена (10 мкг на 1 мл крови) и инкубировали пробирки в течение часа при комнатной температуре, затем центрифугировали при 1500 об/мин. При помощи микродозатора из пробирок забирали две верхние фракции – плазму крови и слой лейкоцитов, разводили физиологическим раствором в соотношении 1:10 и вводили пациентам в гайморовы пазухи посредством заранее установленных дренажей. Предварительно пазухи промывали 0,9% раствором натрия хлорида в объеме 20 мл. Необходимо отметить, что описанный способ терапии проводили на фоне продолжающегося, «стандартного» медикаментозного лечения.

Под нашим наблюдением находилось 30 пациентов в возрасте от 16 до 45 лет, проходивших лечение в стационарах г. Читы, которые были разделены на две группы: 15 пациентов, получавших т.н. «традиционную» терапию, включающую системный антибиотик, установку дренажа гайморовой пазухи\пазух с последующим ежедневным промыванием физиологическим раствором; 15 больных, получавших т.н. «оригинальную» терапию, которая заключалась в назначении «традиционной» терапии в сочетании с оригинальной методикой лечения, описанной выше.

Контрольную группу составили 10 практически здоровых добровольцев. У здоровых и больных ХГРС после установки диагноза производили забор крови и носового секрета. Для получения смывов из полости носа пациенту в каждый общий носовой ход на 10 минут вводили сухие ватные тампоны, которые после извлечения переносили в пробирку, содержащую 1 мл 0,9%-го раствора натрия хлорида. Через 30 мин тампоны тщательно отжимали, и полученный смыв использовали для определения уровня цитокинов [8].

Концентрацию цитокинов в сыворотке крови назального секрета определяли методом ИФА (реактивы фирмы «Вектор-Бест», Новосибирск).

Уровень аутоантител (аАт) к цитокинам определяли оригинальным способом: лунки полистироловых планшетов сенсбилизировали антигенами: IL-1β; IL-2; IL-6; IL-8; IL-10; IF-α (реактивы фирмы «Вектор-Бест», Новосибирск) в количестве 20 мкг в объеме 200 мкл забуференного физиологического раствора (pH 7,4). После этого лунки планшетов трижды отмывали дистиллированной водой и вносили исследуемую жидкость (сыворотка крови, назальный секрет). После инкубации в течение 30 минут при комнатной температуре лунки планшетов вновь отмывали дистиллированной водой и вводили реактивы тест-систем («Вектор-Бест», Новосибирск) для выявления IgG в сыворотке крови и IgAs в назальном секрете.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета программ «BIOSTAT».

Результаты исследования и их обсуждение

Течение местного гнойно-воспалительного процесса отражается на балансе цитокинов в сыворотке крови (табл. 1)

Таблица 1

Содержание цитокинов в сыворотке крови больных ХГРС до и после лечения

Параметры, пг/мл	Здоровые n = 10	ХГРС до лечения n = 30	ХГРС после лечения n = 30	
			традиционное	оригинальное
IL-1β	1,3 (0,7; 1,6)	8,0 (3,5; 12,3)	36,9 (30,1; 49,3)	110,6 (97,1; 156,3)
IL-2	18,3 (15,4; 29,2)	0,00	11,4 (9,1; 12,7)	22,91 (13,95;34,38)
IL-4	0,00	0,5 (0,3; 0,8)	2,6 (2,1; 3,3)	9,91 (6,09;11,2)
IL-6	1,2 (1,0; 1,7)	3,3 (0,1; 9,5)	15,1 (13,8; 17,6)	42,44 (25,83;63,69)
IL-8	32,6 (28,4; 41,7)	18,7 (6,2; 24,9)	40,9 (36,4; 47,9)	34,55 (20,2;125,2)
IL-10	9,3 (7,1; 13,4)	0,00	14,8 (13,1; 17,4)	11,65 (10,19;16,35)
IF-α	2,1 (1,8; 2,6)	5,1 (2,1; 5,9)	20,2 (18,5; 23,7)	69,13 (34,72;87,35)

Прямая зависимость между уровнем IL-2 и IL-10 и уровнем аАт класса IgG к ним в сыворотке крови больных ХГРС свидетельствует о потреблении этих групп цитокинов и их элиминации указанными аАт. Как видно из табл. 1 и 2, как в сыворотке крови, так и осо-

бенно в назальном секрете у больных увеличивается концентрация IL-1β, IL-4, IL-6 и IF-α по сравнению с группой контроля. Уменьшается концентрация IL-8. Следует обратить внимание на то, что в сыворотке крови больных не определяются IL-2 и IL-10, в то время

как в назальном секрете эти цитокины регистрируются $0,18 \pm 0,07$ и $0,62 \pm 0,39$ пг/мл соответственно (табл. 2). Полученные факты

свидетельствуют о возможности проникновения интерлейкинов из местного воспалительного очага в общий кровоток.

Таблица 2

Содержание цитокинов в назальном секрете больных ХГРС до и после лечения

Параметры, пг/мл	Здоровые $n = 10$	ХГРС до лечения $n = 20$	ХГРС после лечения $n = 20$	
			традиционное	оригинальное
IL-1 β	25,0 (18,4;42,8) $p < 0,05$	53,1 (10,1; 223,7)	174,5 (168,1; 186,4)	1,84 (1,6; 2,98)
IL-2	0,00	0,14 (0,07; 0,2)	9,1 (8,3; 10,2)	19,16 (15,77; 21,08)
IL-4	0,6 (0,4; 0,8)	0,3 (0,2; 0,7)	0,7 (0,5; 0,9)	1,096 (0,58;1,55)
IL-6	11,7 (9,1; 17,6) $p < 0,05$	223,1 (216,6; 228,7)	91,8 (87,7; 98,1)	35,49 (27,88;39,05)
IL-8	204,5 (142,3; 261,8)	224,3 (191,9; 265,5)	100,6 (97,1; 110,9)	7,362 (4,057;14,98)
IL-10	0,5 (0,4; 0,9) $p < 0,05$	0,6 (0,4; 0,9)	3,3 (2,9; 3,8)	3,039 (2,64;8,63)
IF- α	1,4 (1,2; 1,9) $p < 0,05$	6,5 (3,2; 9,7)	17,6 (15,4;22,8)	65,74 (51,65;72,34)

У пациентов, получавших «традиционную» терапию, повышается уровень всех определяемых цитокинов в сыворотке крови и IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, IF- α в назальном секрете. Таким образом, видим, что традиционная терапия сопровождалась повышением уровня как про-, так и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови, и в назальном секрете.

При оригинальном способе лечения регистрировали еще большее увеличение концентрации про- и противовоспалительных цитокинов, как в сыворотке крови, так и назальном секрете (см. табл. 1, 2). Выявленные сдвиги позволяют заключить, что предварительная активация клеток крови тимогеном с последующим их введением в воспаленные пазухи носа сопровождается более быстрым увеличением уровня провоспалительных цитокинов и клиническим улучшением. У больных, которых лечили оригинальным методом, гаймориты пазухи были санированы на 3–5 сутки, в то время как традиционная терапия давала положительный эффект на 7–8 день. Вероятно, инкубация крови с тимогеном сопровождалась активацией иммунокомпетентных клеток, что в последующем при введении активированных лейкоцитов в околоносовые пазухи приводило к их быстрой санации.

Концентрация IL-1 β в назальном секрете у больных ХГРС увеличивается практически в 8 раз, также значительно возрастает уровень IL-2, IL-6, IL-8, IF- α . Следует отметить, что при ХГРС содержание IL-4 и IL-10 уменьшается, что, вероятно, связа-

но с потреблением этой группы цитокинов и их элиминацией антителами класса sIgA.

Таким образом, цитокиновый профиль в назальном секрете подвергается более резким изменениям, нежели чем в системном кровотоке, что свидетельствует о преимущественно местном образовании про- и противовоспалительных цитокинов и в целом отражает степень остроты воспалительного процесса.

В специальных исследованиях мы изучали динамику уровня аАт и различных антигенов на фоне лечения ХГРС традиционными и оригинальными методами. Следует сразу указать, что в сыворотке крови исследовались аАт класса IgG, а в назальном секрете sIgA. Полученные данные приведены в табл. 3 и 4.

Как следует из представленных данных, уровень аАт класса IgG к IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, IF- α увеличивался в сыворотке крови как на фоне «традиционного», так и на фоне «оригинального» лечения. Такой сдвиг может свидетельствовать в пользу специфического иммунного ответа к данным интерлейкинам, и, следовательно, усилению их элиминации из организма. На наш взгляд, такая реакция может отображать интенсивность саногенетических реакций, направленных на уменьшение степени воспаления. Выявлено, что концентрация аАт к противовоспалительным цитокинам (IL-4, IL-10) возрастает в сыворотке крови, как при «традиционном», так и при «оригинальном» методах лечения. В назальном секрете, напротив, отмечается снижение уровня аАт к указанным интерлейкинам, что может

свидетельствовать в пользу незначительной элиминации *in situ* противовоспалительных цитокинов в финале воспаления. Уровень

аАт к IF- α после лечения уменьшается в назальном секрете и увеличивается в сыворотке крови.

Таблица 3

Содержание аАт к цитокинам в сыворотке крови больных ХГРС до и после лечения

Параметр	Здоровые	Больные ХГРС	Традиционная терапия	Оригинальная терапия
аАт класса IgG к IL-1 β	0,9 (0,7; 0,12)	0,11 (0,08; 0,22)	0,14 (0,13; 0,28)	0,17 (0,13; 0,3)
аАт класса IgG к IL-2	0,08 (0,06; 0,09)	0	0,1 (0,08; 0,12)	0,15 (0,11; 0,18)
аАт класса IgG к IL-4	0	0,08 (0,05; 0,1)	0,08 (0,08; 0,13)	0,09 (0,07; 0,16)
аАт класса IgG к IL-6	0,11 (0,9; 0,15)	0,13 (0,09; 0,23)	0,14 (0,11; 0,18)	0,1 (0,07; 0,25)
аАт класса IgG к IL-8	0,2 (0,18; 0,27)	0,23 (0,15; 0,26)	0,2 (0,16; 0,24)	0,12 (0,09; 0,22)
аАт класса IgG к IL-10	0,19 (0,15; 0,21)	0	0,2 (0,17; 0,23)	0,08 (0,07; 0,37)
аАт класса IgG к IF- α	0	0	0,1 (0,08; 0,14)	0,11 (0,09; 0,29)

Таблица 4

Содержание аАт к цитокинам в назальном секрете больных ХГРС до и после лечения

Параметр	Здоровые	Больные ХГРС	Традиционная терапия	Оригинальная терапия
аАт класса sIgA к IL-1 β	0,1 (0,07; 0,18)	0	0,12 (0,11; 0,19)	0,16 (0,13; 0,23)
аАт класса sIgA к IL-2	0	0,2 (0,13; 0,21)	0,16 (0,15; 0,23)	0,14 (0,12; 0,17)
аАт класса sIgA к IL-4	0,14 (0,12; 0,16)	0,06 (0,05; 0,09)	0,05 (0,03; 0,08)	0,076 (0,06; 0,079)
аАт класса sIgA к IL-6	0,26 (0,24; 0,31)	0,11 (0,09; 0,13)	0,1 (0,08; 0,11)	0,08 (0,07; 0,09)
аАт класса sIgA к IL-8	0,15 (0,13; 0,19)	0,19 (0,14; 0,22)	0,17 (0,12; 0,19)	0,11 (0,09; 0,17)
аАт класса sIgA к IL-10	0,12 (0,1; 0,16)	0,21 (0,02; 0,3)	0,05 (0,04; 0,1)	0,011 (0,01; 0,02)
аАт класса sIgA к IF- α	0,31 (0,25; 0,39)	1,0 (0,8; 1,5)	0,008 (0,001; 0,01)	0,097 (0,09; 0,1)

Приведенные данные позволяют с большей долей вероятности указывать на роль аАт во взаимодействии с цитокинами в патогенезе местного воспаления. Таким образом, динамические сдвиги содержания аАт в сыворотке крови при использовании предлагаемого принципа лечения ХГРС носят более консолидированный характер, чем в назальном секрете, и в сочетании с однонаправленными изменениями уровня исследуемых цитокинов свидетельствуют о возможности регуляции их количества посредством образования иммунных комплексов с их последующей элиминацией. Динамика уровня аАт в назальном секрете

на фоне «оригинальной» терапии, напротив, носит разнонаправленный характер, что также может свидетельствовать о наличии механизмов регуляции с участием местно-синтезированных аАт и высокой скорости протекания указанных процессов.

Заключение

Нами установлено, что предлагаемый способ терапии, по сравнению с традиционным лечением, сопровождается быстрой санацией ОНП у больных с ХГРС. Следует еще раз указать, что при предложенном способе лечения у больных увеличивается количество как про-, так и противовоспа-

лительных цитокинов в сыворотке крови, а в назальном секрете существенно снижается концентрация IL-1 β , IL-6, IL-8. Подобные сдвиги могут свидетельствовать о быстрой санации местного воспалительного процесса. Однако в системном кровотоке уровень цитокинов продолжает оставаться высоким и, вероятно всего, отражает реакцию цитокин-продуцирующих клеток, активированных различными триггерами, резорбированными в кровотоки из очага гнойного поражения.

Список литературы

1. Козлов В.С. Роль и значение интраназальных кортикостероидов в лечении риносинуситов // Российская ринология. – 2003. – № 3. – С. 20–24.
2. Лопатин А.С. Острый и хронический риносинусит: этиология, патогенез, клиника, диагностика и принципы лечения / А.С. Лопатин, В.П. Гамов. – М.: МИА, 2011. – 72 с.
3. Мокроносова М.А. Макролиды и хронический риносинусит / А. Мокроносова, Ю.С. Куян // Вестник оториноларингологии. Медицинский научно-практический журнал. – 2010. – № 6. – С. 85–88.
4. Николаев М.П. Современные методы медикаментозного и хирургического лечения ринита и полипозного риносинусита. – М., 2000. – 12 с.
5. Пальчун В.Т. Экстренная патология носа и околоносовых пазух. / В.Т. Пальчун, Н.Л. Кунельская, Н.М. Кислова // Вестник оториноларингологии. – 1998. – № 3. – С. 4–12.
6. Пискунов Г.З. Острые и хронические синуситы // Российская ринология. – 2009. – № 2. – С. 7.
7. Плужников М.С. Основные принципы иммунокорригирующей терапии в оториноларингологии / М.С. Плужников, Г.В. Лавренова, Е.Б. Катинас. // Вестник оториноларингологии. – 2008. – № 2. – С. 38–44.
8. Смирнова И.Н. Противовоспалительное действие ингаляций минеральных вод: целесообразность определения биохимических маркеров воспаления в назальном секрете / И.Н. Смирнова, Т.Н. Зарипова, Д.И. Кузьменко // Вопросы курортологии. – 2003. – № 4. – С. 20–23.
9. Хайтов Р.М. Иммунология: учебник для студентов медицинских вузов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 320 с.
10. Desrosiers M.Y. Treatment alternatives for chronic rhinosinusitis persisting after ESS: what to do when antibiotics, steroids and surgery fail / M.Y. Desrosiers, S.J. Kilty // Rhinology. – 2008. – № 46 (1). – P. 3–14.
11. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyposis Supplement (EPOS) 2007; 20.
12. Legent F. Antibiotic prophylaxis in ORL surgery and oral medicine / F. Legent, J.F. Arnould // Ann. Fr. Anesth. Reanim. – 1994. – № 13. – P. 100–109.

References

1. Kozlov V.S. Rol' i znachenie intranazal'ny khkorkosteroidov v lechenii rinosinusitov // Rossiyskaya rinologiya. 2003. no. 3. pp. 20–24.
 2. Lopatin A.S. Ostryi i khronicheskiy rinosinusit: etiologiya, patogenez, klinika, diagnostika i printsipy lecheniya / Lopatin A.S., Gamov V.P. M.: MIA, 2011. 72 p.
 3. Mokronosova, M.A. Makrolidy i khronicheskiy rinosinusit / A. Mokronosova, YU.S. Kuyan // Vestnik otorinolaringologii. Meditsinskiy nauchno-prakticheskiy zhurnal. 2010. no. 6. pp. 85–88.
 4. Nikolayev M.P. Sovremennyye metody medikamentoznogo i khirurgicheskogo lecheniya rinita i polipoznogo rinosinusita. / M.P. Nikolayev. M. 2000. 12 p.
 5. Pal'chun V.T. Ekstrennaya patologiya nosa i okolo nosovykh pazukh / V.T. Pal'chun, N.L. Kunel'skaya, N.M. Kislova // Vestnik otorinolaringologii. 1998. no. 3. pp. 4–12.
 6. Piskunov G.Z. Ostrye i khronicheskiye sinusity // Rossiyskaya rinologiya. 2009. no. 2. pp. 7.
 7. Pluzhnikov M.S. Osnovnyye printsipy immuno korigiruyushchey terapii v otorinolaringologii / M.S. Pluzhnikov, G.V. Lavrenova, Ye.B. Katinas. // Vestnik otorinolaringologii. 2008. no. 2. pp. 38–44.
 8. Smirnova I.N. Protivovospalitel'noye deystviye ingalyatsiy mineral'nykhvod: tselesoobraznost' opredeleniya biokhimicheskikh markerov vospaleniya v nazal'nomsekrete / I.N. Smirnova, T.N. Zaripova, D.I. Kuz'menko // Voprosykurortologii. 2003. no. 4. pp. 20–23.
 9. Khaitov R.M. Immunologiya: uchebnik dlya studentov meditsinskikh VUZov. M.: GEOTAR-Media, 2006. – 320 p.
 10. Desrosiers M.Y. Treatment alternatives for chronic rhinosinusitis persisting after ESS: what to do when antibiotics, steroids and surgery fail / M.Y. Desrosiers, S.J. Kilty // Rhinology. 2008. no. 46 (1). pp. 3–14.
 11. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyposis Supplement (EPOS) 2007; 20.
 12. Legent F. Antibiotic prophylaxis in ORL surgery and oral medicine / F. Legent, J.F. Arnould // Ann. Fr. Anesth. Reanim. 1994. no. 13. pp. 100–109.
- Рецензенты:**
Кузник Б.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии ГБОУ ВО ЧГМА Минздравсоцразвития Российской Федерации, г. Чита;
Степанов А.В., д.м.н., заведующий кафедрой безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф ГБОУ ВПО ЧГМА Минздравсоцразвития Российской Федерации, г. Чита.
Работа поступила в редакцию 03.12.2012.