

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
УХА, ГОРЛА, НОСА И РЕЧИ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Начаров
Петр Васильевич

ПАТОГЕНЕЗ ОБЩИХ И ЛОКАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛОР-ОРГАНОВ, ИХ
ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

14.03.03 – патологическая физиология

14.01.03 – болезни уха, горла и носа

диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:

Цыган Василий Николаевич –
заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор

Янов Юрий Константинович –
заслуженный врач РФ, академик РАН,
доктор медицинских наук, профессор

Санкт-Петербург

2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ОЦЕНКЕ ОБЩИХ И ЛОКАЛЬНЫХ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛОР-ОРГАНОВ.....	18
(обзор литературы)	18
1.1. Патология лимфоэпителиального глоточного кольца	18
1.2. Метаболомный анализ	26
1.3. Анализ параметров твердофазных состояний биологических жидкостей при хроническом гнойном среднем отите.....	32
1.4. Патолофизиологические изменения системы иммунитета при воспалительных заболеваниях ЛОР-органов	38
1.5. Лабораторная диагностика нарушений свертывающей системы крови.....	49
1.6. Инфекции, актуальные при воспалительных заболеваниях ЛОР-органов ...	54
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	64
2.1. Общая характеристика групп больных и групп контроля, включенных в исследование.....	64
2.2. Методы получения биологического материала для лабораторных исследований	70
2.4. Методы статистического анализа результатов исследований	83
ГЛАВА 3. МЕТАБОЛОМНЫЙ АНАЛИЗ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ.....	85
3.1. Результаты клинических лабораторных исследований	85
3.2. Определение в крови иммунологических показателей	86
3.3. Показатели иммунологической функции небных миндалин.....	88
3.4. Спектр бактериальной флоры небных миндалин	92
ГЛАВА 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИПИДНОГО ОБМЕНА И МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ СТРУКТУР ТВЕРДОЙ ФАЗЫ РЕГИОНАРНЫХ ВНЕШНИХ СЕКРЕТОВ.....	122
ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГНОЙНОМ СРЕДНЕМ ОТИТЕ У ВЗРОСЛЫХ	122

4.1. Исследование обмена липидов	122
4.1.1. Липидный профиль крови.....	122
4.1.2. Результаты исследования липидов в регионарных внешних секретах .	125
4.2. Морфологический анализ твердой фазы биологических жидкостей при хроническом гнойном среднем отите.....	131
4.2.1. Морфологическая характеристика слюны у взрослых	131
4.2.2. Изучение природы холестеринopodobных кристаллов.....	140
4.2.3. Морфологическая характеристика препаратов отделяемого из среднего уха	144
4.3. Результаты гистологических исследований	149
ГЛАВА 5. ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СИСТЕМЫ	
ИММУНИТЕТА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ НАРУЖНОМ ДИФфуЗНОМ ОТИТЕ	
У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ	151
5.1. Микробиологическая характеристика очага воспаления.....	153
5.2. Состояние системы иммунитета при бактериальном наружном диффузном отите.....	155
5.3. Динамика микробного пейзажа очага воспаления и показателей иммунитета на фоне проведенного лечения бактериального наружного диффузного отита	175
ГЛАВА 6. ВЛИЯНИЕ ЛАТЕНТНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА ХРОНИЧЕСКУЮ	
ПАТОЛОГИЮ ЛИМФОЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ГЛОТОЧНОГО КОЛЬЦА У	
ДЕТЕЙ, ОСЛОЖНЕННУЮ ЭКССУДАТИВНЫМ СРЕДНИМ ОТИТОМ	202
6.1. Маркеры латентных инфекций у больных экссудативным средним отитом	202
6.2. Изучение взаимосвязи латентных инфекций и клинической картины ЭСО	207
6.3. Цитологические и иммунологические исследования.....	217
6.4. Использование результатов исследований на латентные инфекции для определения индивидуальных схем лечения.....	222

ГЛАВА 7. ВЛИЯНИЕ ОПЕРАЦИОННОЙ ТРАВМЫ И ЛАТЕНТНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА У ДЕТЕЙ С ПАТОЛОГИЕЙ ЛИМФОЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ГЛОТОЧНОГО КОЛЬЦА	230
7.1. Показатели свертывающей системы крови до оперативного лечения	230
7.2. Воздействие операционной травмы на систему гемостаза.....	235
7.3. Связь нарушений системы гемостаза и операционных кровотечений с ВЭБ-, ЦМВ- и стрептококковой инфекциями	240
7.4. Динамика плазменного фибронектина на этапах оперативного лечения ...	249
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	254
ВЫВОДЫ	281
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	283
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	284
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	286

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Вопросы диагностики и лечения воспалительных заболеваний ЛОР-органов представляют собой важнейшую медицинскую и социальную проблему, решение которой выходит за рамки узкой специальности и понятий о сугубо локальных патологических изменениях организма [Богомильский М.Р., Чистякова В.Р., 2012; Пальчун В.Т., 2016]. Этот вид патологии привлекает внимание не только оториноларингологов и патофизиологов, но и более широкого круга специалистов, что обусловлено несколькими причинами.

Во-первых, воспаление касается не только слизистой оболочки носоглотки, но и лимфоэпителиального глоточного кольца, миндалины которого являются периферическими отделами иммунной системы организма. Повреждение периферии непременно отражается на системе в целом [Brandtzaeg P., 2003]. Данное обстоятельство свидетельствует о наличии патологических процессов на уровне целостного организма.

Во-вторых, воспалительные заболевания сопровождаются изменением состава микрофлоры ЛОР-органов. В научной литературе регулярно появляются сообщения о выделении тех или иных патогенных и условно патогенных микробов, однако специфические возбудители этих болезней не существуют [Терскова Н.В. и соавт., 2012; Капустина Т.А. и соавт., 2008].

В-третьих, воспалительная патология ЛОР-органов характеризуется высокой распространенностью, снижением качества жизни больных и риском развития серьезных осложнений. Вместе с тем, спектр исследований, используемых для оценки молекулярных механизмов патологических процессов в оториноларингологии, относительно невелик.

Степень разработанности темы

Патология миндалин лимфоэпителиального глоточного кольца, контактирующих с внешней средой (воздух, пища, чужеродная микрофлора) и обеспечивающих барьерную функцию, при кажущемся локальном характере

патологического процесса оказывает воздействие на весь организм [Brandtzaeg P., 2003]. Вместе с тем, исследования операционного материала показывают, что небные миндалины могут сохранять свою функцию даже при клинической картине декомпенсированной формы хронического тонзиллита [Мельников О.Ф., 1981]. Таким образом, решение о применении хирургических вмешательств на этих иммунокомпетентных органах по-прежнему требует более объективной и достоверной оценки их функционального состояния.

При хроническом тонзиллите применяется исследование функции небных миндалин методом Е.Л. Попова и П.Н. Пущиной (1982, 1987), который включает комплексное исследование клеточных элементов и микрофлоры в содержимом крипт небных миндалин. Вместе с тем, этот метод недостаточно эффективен, а оценка функционального состояния небных миндалин по анализу параметров врожденного и адаптивного иммунитета, необходимая для выбора метода лечения, представляет определенные трудности [Заболотный Д.И., Мельников О.Ф., 1999, 2010; Мельников О.Ф. и соавт., 2015].

Перспективным направлением развития молекулярных методов в медицине является метаболомика, которая изучает конечные и промежуточные продукты обмена веществ в организме, в том числе и микробиоты [Kaddurah-Daouk R. et al., 2008.]. Одним из направлений метаболомики является изучение выдыхаемого воздуха при различных патологических процессах с помощью анализаторов, в которых использована технология электронного носа (EN-технология) [Wilson A.D., 2015]. К настоящему времени имеется большой опыт исследований выдыхаемого воздуха при многих заболеваниях человека [Roine A. et al., 2014; Wilson A.D., Baietto M., 2011; Arasaradnam R.P. et al., 2014]. Однако при хроническом тонзиллите для изучения патологических изменений в небных миндалинах метаболомный анализ не применялся.

При хирургическом лечении детей с патологией лимфоэпителиального глоточного кольца в предоперационное обследование входят скрининговые коагулологические исследования, удовлетворительные результаты которых, не являются гарантией отсутствия операционных кровотечений, которые

развиваются, несмотря на соблюдение хирургических технологий. Так, тромбоцитопатия, проявляющаяся кровоточивостью, может присутствовать как при нормальном содержании тромбоцитов, так и при тромбоцитозе [Вавилова Т.В., 2005]. Известно негативное влияние операционной травмы на систему гемостаза [Любошевский П.А. и соавт., 2012; Ефименко Н.А. и соавт., 2006], в то же время ее воздействие на свертывающую систему крови у детей при хирургических вмешательствах на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца пока не изучено.

Дискутируется роль бактериальных, вирусных, грибковых ассоциаций в этиологии и патогенезе хронического тонзиллита и аденоидита у детей [Терскова Н.В. и соавт., 2012; Капустина Т.А. и соавт., 2008]. При этом наиболее важное патогенетическое значение выявлено у возбудителей герпесвирусных (ВЭБ и ЦМВ) инфекций, оказывающих непосредственное воздействие на систему иммунитета [Дроздова М.В. и соавт., 2011; Assadian F. et al., 2016]. Клинические проявления ВЭБ- и ЦМВ-инфекций многочисленны, но преобладают их бессимптомные и стертые формы [Лобзин Ю.В., 2008], что затрудняет оценку их влияния на клиническую картину заболеваний ЛОР-органов [Калинина Н.М. и соавт., 2011; Dunmire S.K. et al., 2015].

В настоящее время считается доказанной взаимосвязь системы иммунитета и гемостаза [Кузник Б.И. и соавт., 2005]. Имеются данные, что приобретенные тромбоцитопатии при хроническом тонзиллите ассоциируются с микробной инфекцией [Шпотин В.П. и соавт., 2001]. Вместе с тем, возможное влияние ВЭБ- и ЦМВ-инфекций на развитие кровотечений при хирургических вмешательствах на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца и характер нарушений в системе гемостаза пока не изучены.

Актуальность изучения патогенеза экссудативного среднего отита на фоне хронической патологии лимфоэпителиального глоточного кольца у детей обусловлена не только широким распространением этого заболевания, но и опасностью развития стойкой тугоухости [Богомильский М.Р., Чистякова В.Р., 2008; Преображенский Н.А., Гольдман И.И., 1987]. Вопросам патогенеза

экссудативного среднего отита посвящены многие работы, однако роль латентных инфекций в формировании этого заболевания требует дальнейшего изучения [Бурмистрова Т.В., 2004; Золотова Т.В., Манукян А.Г., 2016; Хулугурова Л.Н. и соавт., 2011; Щербик Н.В. и соавт., 2011].

Бактериальный наружный диффузный отит продолжает оставаться одним из самых распространенных заболеваний в оториноларингологии [Косяков С.Я., Курлова А.В., 2011; Hajioff D., MacKeith S., 2010]. Имеются отдельные работы, свидетельствующие о важности иммунологических механизмов в патогенезе отомикоза и рецидивирующих фурункулов наружного слухового прохода [Богоманова Д.Н., Азнабаева Л.Ф., 1994; Карабаева Х.Э., 1997; Курдина М.И., 2002; Павленко С.А. и соавт., 2003]. Но бактериальный наружный отит в этом аспекте не изучен, что требует исследования изменений системы иммунитета больных для изучения патогенеза этого заболевания и разработки подходов к выбору адекватных методов лечения.

Исследование антимикробных пептидов и белков позволяет существенно повысить информативность оценки иммунного статуса организма [Кокряков В.Н. и соавт., 2006; Yang D. et al., 2001; Zhang X. et al., 2016]. Эти биологически активные молекулы являются важными компонентами системы врожденного иммунитета [Ярыгин А.А., 2010]. Несмотря на имеющиеся данные о нарушении механизмов врожденного иммунитета при ряде заболеваний ЛОР-органов, состояние системы антимикробных белков и пептидов у больных бактериальным наружным диффузным отитом не изучено.

Цитокины являются непосредственными участниками активации и регуляции иммунных реакций организма, в том числе локальных [Симбирцев А.С., 2002]. Все этапы иммунологических реакций на инфекцию и повреждающие воздействия, а также формирование репаративных процессов происходят с участием цитокинов [Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж., 2008; Симбирцев А.С., 1998]. В последние годы появляются все новые и новые факты, указывающие на патогенетическую связь существенной части ЛОР-патологии с состоянием системы иммунитета, в частности с системой цитокинов

[Миниахметова Р.Р. и соавт., 2010; Aghamohammadi A. et al., 2008; Revai K. et al., 2009; Qin C.H. et al., 2013]. Несмотря на это, при средних и наружных отитах цитокиновый спектр изучен недостаточно.

С.Н. Шатохиной и В.Н. Шабалиным (1996, 2001) разработана лабораторно-диагностическая методология, основанная на положениях теории о самоорганизации жидких систем. Результаты исследований свидетельствуют, что формирование патологических процессов сопровождается характерными морфологическими изменениями структуры биологических жидкостей [Шатохина С.Н. и соавт., 2014, 2015, 2016]. На основе морфологического анализа слюны В.И. Самбуловым и соавт. (2001) был разработан метод диагностики холестеатомы барабанной полости у детей. Апробация этого метода у взрослых пациентов также представляет научный и практический интерес. Остается открытым вопрос о возможной роли нарушения липидного обмена в организме в патогенезе холестеатомного процесса при хроническом гнойном среднем отите [Ситников В.П., 1985].

Патофизиологическое обоснование применения лабораторных показателей в оториноларингологии имеет значение для определения тяжести патологических процессов, а также для прогноза клинического течения заболеваний и оценки эффективности методов лечения. Таким образом, необходимость разработки нового научного направления по созданию комплексных лабораторно-диагностических подходов к проблемам диагностики и лечения воспалительных заболеваний среднего и наружного уха и лимфоэпителиального глоточного кольца, а также недостаточная изученность этиологических и патогенетических аспектов этих видов патологии определили цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования

На основе изучения этиологических и патогенетических факторов воспалительных заболеваний ЛОР-органов разработать и обосновать комплекс новых лабораторных диагностических способов, обеспечивающих повышение качества диагностики и лечения пациентов.

Задачи исследования

1. Провести метаболомный анализ выдыхаемого воздуха у взрослых больных хроническим тонзиллитом с помощью технологии «электронный нос».
2. Определить доминирующий источник характерного метаболомного спектра летучих веществ в выдыхаемом воздухе, изучить его значимость для дифференциальной диагностики хронического тонзиллита и оценки эффективности лечения.
3. Применить метод морфологического анализа твердой фазы регионарных внешних секретов для диагностики холестеатомы барабанной полости у взрослых больных. Определить у больных хроническим гнойным средним отитом особенности липидного обмена.
4. Выявить варианты изменений системы иммунитета у взрослых больных бактериальным наружным диффузным отитом.
5. Оценить эффективность различных методов лечения больных бактериальным наружным диффузным отитом по динамике изменений параметров иммунитета.
6. Определить патогенетическое значение латентно протекающих инфекций (ВЭБ, ЦМВ, микоплазмы пневмонии и хламидофилы пневмонии) при экссудативном среднем отите у детей.
7. Оценить перспективность исследования латентных инфекций (ВЭБ, ЦМВ, микоплазмы пневмонии и хламидофилы пневмонии) для повышения качества послеоперационной реабилитации больных.
8. Определить влияние операционной травмы и латентных инфекций (ВЭБ, ЦМВ) на систему гемостаза и развитие операционных кровотечений при хронической патологии лимфоэпителиального глоточного кольца у детей. Разработать предложения по усовершенствованию предоперационного лабораторного обследования детей.

Научная новизна исследования

На основе изучения патогенеза воспалительных заболеваний ЛОР-органов разработаны новые диагностические подходы, обеспечивающие повышение качества диагностики и лечения оториноларингологических больных.

Впервые у взрослых больных хроническим тонзиллитом выявлены характерные метаболомные изменения выдыхаемого воздуха, обусловленные патологическими процессами в небных миндалинах. Разработан способ дифференциальной диагностики форм хронического тонзиллита по анализу летучих компонентов выдыхаемого воздуха.

Показана значимость нарушения транспорта холестерина из барабанной полости за счет снижения способности тканевого холестерина обмениваться с холестерином плазмы в патогенезе холестеатомного процесса среднего уха, а также характерные морфологические изменения твердой фазы отделяемого из барабанной полости у больных хроническим гнойным средним отитом.

У взрослых больных бактериальным наружным диффузным отитом обнаружен транзиторный вторичный иммунодефицит. Выявлены особенности системы иммунитета у пациентов с различными вариантами клинической картины заболевания.

При хронической патологии лимфоэпителиального глоточного кольца у детей установлено патогенетическое значение сопутствующих ВЭБ-, ЦМВ-, микоплазменной и хламидофильной инфекций, обуславливающих развитие экссудативного среднего отита и тяжесть его клинической картины, а также сложность послеоперационной реабилитации.

Доказано снижение функциональной активности тромбоцитов при оперативном вмешательстве на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца у детей, которое в большей степени проявляется у больных с персистирующими герпесвирусными и стрептококковой инфекциями.

Впервые проведена оценка уровня фибронектина плазмы крови при хроническом аденоидите и тонзиллите у детей. Показано, что сочетание повышенных значений плазменного фибронектина и наличия маркеров

герпесвирусных (ВЭБ и ЦМВ), стрептококковой инфекций в крови является одним из проявлений скрытых нарушений в системе гемостаза.

Теоретическая значимость работы

Уточнены ведущие звенья патогенеза хронического тонзиллита у взрослых. Хроническое воспаление небных миндалин сопровождается изменением состава летучих веществ в выдыхаемом воздухе, характеризующимся повышением уровня летучих жирных кислот. Высокая бактериальная обсемененность лакун небных миндалин и снижение в них содержания лимфоцитов, сопровождающие хроническое воспаление, не связаны с высоким уровнем летучих жирных кислот в выдыхаемом воздухе.

Раскрыто патогенетическое значение нарушений липидного обмена при формировании холестеатомного процесса в среднем ухе у взрослых больных. Выявлено нарушение транспорта холестерина из патологического очага за счет снижения способности тканевого холестерина обмениваться с холестерином плазмы, что является патогенетическим фактором, обуславливающим недоброкачественное течение хронического гнойного среднего отита у взрослых.

Показано патогенетическое значение изменения системы антимикробных белков и фагоцитарной активности нейтрофилов при наружном бактериальном диффузном отите у взрослых. Применение полученных данных позволяет понять связь между нарушениями системы иммунитета и характером клинических проявлений заболевания.

Выявлена патогенетическая роль хронической персистенции герпесвирусных (ВЭБ и ЦМВ), микоплазменной и хламидофилезной инфекций в формировании аллергического воспаления в условиях лимфопролиферативного синдрома, осложненного экссудативным средним отитом.

Доказано, что операционная травма при хирургических вмешательствах на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца у детей опосредует снижение функциональной активности тромбоцитов. Хроническая персистенция герпесвирусных и стрептококковой инфекций усугубляет негативное влияние операционной травмы на систему гемостаза.

Практическая значимость работы

Предложен метод исследования спектра летучих веществ в выдыхаемом воздухе у взрослых больных хроническим тонзиллитом с помощью анализатора «электронный нос». Определены критерии дифференциальной диагностики форм хронического тонзиллита и оценки эффективности проводимой консервативной терапии по анализу состава выдыхаемого воздуха.

Предложен новый способ диагностики холестеатомного процесса при хроническом гнойном среднем отите у взрослых с использованием морфологических характеристик биологических жидкостей, перешедших в твердую фазу. Предложен метод получения образцов отделяемого из слуховой трубы для анализа. Предложенная особенность забора биологического материала из слуховой трубы и его анализ отличаются большей диагностической значимостью по сравнению с анализом слюны.

Установлены иммунологические показатели, имеющие значение для прогноза клинического течения бактериального наружного отита и оценки эффективности проводимого лечения у взрослых больных.

Включение в схему обследования детей с экссудативным средним отитом определения в крови иммунологических маркеров герпесвирусных (ВЭБ и ЦМВ), микоплазменной и хламидофильной инфекций позволяет оптимизировать этиотропную терапию в послеоперационном периоде для обеспечения более полной реконвалесценции.

Исследование агрегации тромбоцитов перед операцией на глоточной и небных миндалинах у детей позволяет выявить нарушения тромбоцитарного звена системы гемостаза, не определяемые традиционным комплексом коагулологических тестов. Контроль агрегационной функции тромбоцитов во время оперативного вмешательства позволяет своевременно принимать меры для предупреждения операционного кровотечения.

Методология и методы исследования

Методологические подходы исследования базировались на принципах динамичности, комплексности и объективности изучения патофизиологических

процессов воспалительных заболеваний ЛОР-органов. На основе полученных данных проводилась оценка диагностической и прогностической значимости метаболомных, иммунологических, морфологических и коагулологических показателей и целесообразность использования их для анализа различных биологических материалов.

Применялись следующие методы исследований: клинические, цитологические, бактериологические, биохимические, коагулологические, метаболомный анализ выдыхаемого воздуха при помощи технологии «электронный нос», иммунологические, включающие определение показателей системы иммунитета, острофазовых белков воспаления, маркеров латентных инфекций.

Положения, выносимые на защиту

1. Выдыхаемый воздух у взрослых больных хроническим тонзиллитом характеризуется повышенными значениями метаболомных показателей и статистически значимо различается при компенсированной и декомпенсированной формах заболевания.
2. При хроническом гнойном среднем отите у взрослых больных происходит нарушение транспорта холестерина из барабанной полости за счет снижения способности тканевого холестерина обмениваться с холестерином плазмы. Это нарушение находит отражение в морфологической картине твердой фазы отделяемого среднего уха.
3. Вторичный транзиторный иммунодефицит, выявленный у взрослых больных бактериальным наружным диффузным отитом, проявляется нарушениями реакций системы иммунитета на внедрение патогенной бактериальной микрофлоры. Определение фагоцитарной активности нейтрофилов, содержания в крови цитокинов IL-1 β , TNF- α , острофазового белка LBP и кателицидина LL-37 позволяет выявить варианты вторичного транзиторного иммунодефицита и прогнозировать клиническое течение заболевания.
4. Наличие персистирующих герпетической (ВЭБ и ЦМВ), микоплазменной и

хламидофилезной инфекций у детей с экссудативным средним отитом на фоне хронической патологии лимфоэпителиального глоточного кольца опосредует более выраженную клиническую картину заболевания. Определение иммунологических маркеров ВЭБ-, ЦМВ-, микоплазменной и хламидофилезной инфекций в крови позволяет прогнозировать течение послеоперационного периода и определять схему этиотропной терапии для восстановления слуховой и тубарной функции у больных.

5. Анализ адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов позволяет определить степень воздействия операционной травмы на показатели системы гемостаза у детей при оперативных вмешательствах на глоточной и небных миндалинах. Наличие персистирующей герпетической инфекции, вызванной ВЭБ и ЦМВ, требует выделения таких пациентов в группу повышенного риска развития операционных кровотечений. Повышенные уровни фибронектина плазмы крови у детей указывают на скрытые нарушения в системе гемостаза.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Свидетельством достоверности результатов диссертационного исследования является достаточный объем обследованных: 687 больных (290 взрослых, 397 детей) и 97 человек (87 взрослых, 10 детей), включенных в контрольные группы, а также статистическая обработка полученных данных с использованием лицензионного программного продукта «STATISTICA» (for Windows, вер. 5.5).

Основная идея, концепция и полученные результаты диссертации доложены и обсуждены на Российской научно-практической конференции с международным участием «Роль клинической микробиологии в профилактике внутрибольничных инфекций» (г. Москва, 2004), VII научно-практической конференции «Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения в многопрофильных лечебных учреждениях» (Санкт-Петербург, 2005), XVII съезде оториноларингологов России (Нижний Новгород, 2006), II научно-практической конференции оториноларингологов Южного Федерального округа (Сочи, 2006), юбилейной конференции, посвященной 150-летию Городской Покровской

больницы (Санкт-Петербург, 2009), Пленарном заседании Санкт-Петербургского научного общества оториноларингологов (2010), 1059-м Пленарном заседании Санкт-Петербургского научно-медицинского общества оториноларингологов (2012), I Петербургском форуме оториноларингологов России (2012), II Петербургском форуме оториноларингологов России (2013), на Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2015), на научно-практической конференции оториноларингологов Сибирского федерального округа «Современные вопросы оториноларингологии» (Иркутск, 2015).

Внедрение результатов исследования в практику

Основные положения диссертационной работы внедрены в лечебно-диагностический и учебный процессы ФГБУ «СПб НИИ ЛОР» Минздрава России и ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, внедрены в практику ЛОР-отделений СПб ГБУЗ «Городская Покровская больница» и СПб ГБУЗ «Детская городская больница №19» им. К.А. Раухфуса.

Публикации

Число научных работ, опубликованных по теме настоящей диссертации, – 29, 17 из них – в рецензируемых журналах, входящих в перечень, утвержденный Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации, 1 учебно-методическое пособие для врачей, 1 справочник для врачей, 1 руководство по клинической лабораторной диагностике, подана заявка на изобретение № 2006146016 «Способ диагностики хронического тонзиллита по газовому составу выдыхаемого воздуха», дата приоритета 14.12.2006 г., получен 1 патент Российской Федерации на изобретение: № 2315302 от 20.01.2008 г.

Структура и объем диссертации

Текст диссертации изложен на 337 страницах и имеет структуру, соответствующую положениям ГОСТ Р 7.0.11 – 2011. Работа иллюстрирована 65 рисунками и 117 таблицами. В списке литературы содержится 285 отечественных и 257 зарубежных источников, всего – 542 источника.

Личный вклад автора

Диссертация представляет собой самостоятельный научный труд. Автором сформулированы цель и задачи исследования, проведено планирование и осуществлена организация этапов исследования, непосредственно выполнена значительная часть лабораторных исследований, проведена систематизация полученных данных. Автором изучена научная литература по теме диссертации, проведены интерпретация и анализ результатов исследований, написаны публикации по теме диссертации и сама диссертация.

ГЛАВА 1. МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ОЦЕНКЕ ОБЩИХ И ЛОКАЛЬНЫХ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛОР-ОРГАНОВ (обзор литературы)

1.1. Патология лимфоэпителиального глоточного кольца

Лимфоэпителиальное глоточное кольцо Вальдейера – Пирогова является лимфоидной тканью, локализованной на начальных участках дыхательных путей и пищеварительного тракта (MALT – лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистой оболочкой) [Bachert C., Moller P., 1990]. Оно действует не только как первый барьер, препятствующий проникновению в организм чужеродных микроорганизмов и веществ внешней среды, но и как зона контакта с ними [Hellings P. et al., 2000; Masieri S. et al., 2014].

Основной функцией кольца Вальдейера – Пирогова является образование антител, которые впоследствии реагируют на воздействие широкого спектра антигенов [Brandtzaeg P., 2010; Bogaerts M. et al., 2012]. Оно воспринимает антигены, поступающие извне, и представляет их другим отделам иммунной системы для включения механизмов защиты. Снижение функции кольца Вальдейера – Пирогова под влиянием воспалительных процессов проявляется целой чередой нарушений кооперативных связей органов и систем организма [Brandtzaeg P., 2003].

Аденоидит. Хроническая патология лимфоэпителиального глоточного кольца представляет собой существенную проблему в педиатрии, т.к. составляет до 74% заболеваний ЛОР-органов у детей 3-10 лет [Цветков Э.А., 2003]. Необходимо отметить, что наиболее часто хроническое воспаление развивается в глоточной миндалине, которая представляет собой верхнюю часть кольца Вальдейера – Пирогова [Peter J.R., 2008].

При некоторых патологических процессах глоточная миндалина очень увеличивается и нередко закрывает своей массой внутренние носовые ходы. Такие разрастания глоточной миндалины называют аденоидами, а их воспаление

– аденоидитом [Хэм А., Кормак Д., 1983]. Гипертрофия глоточной миндалины у детей обусловлена повышенной частотой инфекций верхних дыхательных путей (ВДП) [Görür K. et al., 2001]. Этот отдел верхних дыхательных путей является важным местом контакта ингаляционных микроорганизмов и антигенов с иммунокомпетентными клетками [Peter J.R., 2008].

В свою очередь, гипертрофия глоточной миндалины играет важную роль в формировании различных патологических процессов, которые включают в себя экссудативный средний отит, рецидивирующий отит [Peter J.R., 2008]. Влияние аденоидов на развитие воспаления среднего уха опосредовано тремя факторами: обструктивным, инфекционным (микроорганизмы и бактериальные биопленки) [Post J.C. et al., 2007, Nistico L. et al., 2012] и иммунологическим (дисбаланс защитных факторов) [Cassano P., Cassano M., 2011].

Этиологическое значение микроорганизмов при аденоидите

А. Swinski и соавт. (2007) при изучении этиологии и патогенеза рецидивирующего аденоидитиса выделили из лимфоидной ткани миндалин бактерии нескольких родов: *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Fusobakteria*, *Pseudomonas* и *Burholderia*. По данным А.И. Извина (2011), наиболее частыми представителями микрофлоры глоточной миндалины являлись энтерококки, стрептококки и золотистый стафилококк. М. Davcheva-Chakar и соавт. (2015) полагают, что выделенные из глоточной миндалины *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes* группы А обладают большим потенциалом для формирования биопленок и являются этиологическими факторами хронического экссудативного среднего отита и хронического риносинусита у тех же пациентов.

В.Я. Кунельская и соавт. (2010) выявила значение грибковой флоры как этиологического фактора аденоидита у детей. Наиболее часто были выделены дрожжеподобные грибы рода *Candida*.

Установлено, что формирование гипертрофии глоточной миндалины связано с нарушениями системы иммунитета, которые обусловлены влиянием патогенных микроорганизмов, в частности бета-гемолитических стрептококков

группы А, но в большей степени лимфотропных вирусов ВЭБ и ЦМВ, а также других латентных инфекций [Дроздова М.В. и соавт., 2001; Терскова Н.В. и соавт., 2012].

Сравнительные исследования полиморфизма генов цитокинов и системы иммунитета показали, что гипертрофия миндалин лимфоэпителиального глоточного кольца у детей связана с рецидивами острых респираторных инфекций [Шабалдина Е.В., 2012].

Вместе с тем, выделенную микрофлору нельзя рассматривать в качестве возбудителя, т.к. при искусственном заражении она не вызывает аденоидита, а также различия ее спектра не придают клинической и иммунологической картине заболевания специфические черты [Терскова Н.В. и соавт., 2012].

Экссудативный средний отит как осложнение аденоидита. Одним из осложнений гипертрофии глоточной миндалины и аденоидита у детей является экссудативный средний отит [Савенко И.В. и соавт., 2010; Atkinson H. et al., 2015; Mills R. et al., 2016]. В его патогенезе существенную роль играют нарушения двух функций слуховой трубы – дренажной и вентиляционной, которые формируются, в том числе, и вследствие аденоидита [Бобошко М.Ю., Лопотко А.И., 2003]. Помимо воспаления лимфоэпителиального глоточного кольца, развитию экссудативного среднего отита способствуют такие факторы, как аллергия, инфекция, снижение иммунной защиты [Mills R., Nathorn I., 2016; Ruben R.J., 2008; Smirnova M.G. et al., 2002].

В настоящее время изучается этиологическое значение различных инфекционных патогенов, поражающих верхние дыхательные пути, в развитии экссудативного среднего отита. По данным литературы, присутствие бактерий в экссудате полости среднего уха выявлено в большей части случаев [Davcheva-Chakar M. et al., 2015]. Патогенез инфекционной патологии уха связывают с присутствием бактериальной биопленки [Mena Viveros N., 2014]. При экссудативном среднем отите и в острой фазе, и в периоде ремиссии выявлены фрагменты ДНК грамотрицательных бактерий, которые в ряде случаев не были обнаружены в культуре и могли быть источником эндотоксинов, присутствующих

в экссудате [Dingman J.R. et al., 1998].

Достижение 5-7-летнего возраста является критическим, после которого большинство детей перестают болеть острым средним отитом, а у части формируется хронический средний отит. В настоящее время остается неясным, какие факторы обуславливают переход среднего отита от острой формы к экссудативной.

Патофизиологические процессы при аденоидите. Вопрос иммунодефицитного состояния при хроническом аденоидите до настоящего времени является неоднозначным. Тем не менее, факт повреждения органа, относящегося к системе иммунитета, а также затяжное клиническое течение и наличие инфекционного синдрома свидетельствуют о развитии иммунодефицитного состояния [Терскова Н.В., 2016]. Однако при хроническом аденоидите иммунограмма не всегда позволяет однозначно судить о наличии иммунодефицита и его степени выраженности, что чревато некорректным назначением иммуностропных препаратов [Петров Р.В. и соавт., 1995; Терскова Н.В., 2016].

Ряд авторов указывает на аллергический компонент патогенеза аденоидита [Круговская Н.Л., 2008; Самсыгина Г.А., 2005; Karaca S.T. et al., 2012]. Это свидетельствуют о необходимости определения детям с аденоидитом содержания в крови общего IgE и специфических IgE к бытовым и пыльцевым аллергенам.

Хронический тонзиллит. Хронический тонзиллит (ХТ) у детей остается важной патологией не только для отоларингологов, но и терапевтов, и специалистов клинической лабораторной диагностики [Гаджимирзаев Г.А., 2010; Еремина Н.В. и соавт., 2008; Хасанов С.А., Мухримова Ш.З., 2016]. Особенно часто, до 63%, хронический тонзиллит встречается в группе часто болеющих детей [Богомильский М.Р., Чистякова В.Р., 2008; Пальчун В.Т. и соавт., 2007].

Значение микроорганизмов в этиологии хронического тонзиллита. Связь хронического тонзиллита со стрептококковой и вирусными инфекциями указывает на его инфекционную этиологию [Лопотко И.А., 1963; Попа В.А., 1984; Яковенко В.Д. и соавт., 1990]. Безангинное развитие и течение хронического

тонзиллита характерно для детей первых лет жизни на фоне часто повторяющихся острых респираторных вирусных заболеваний [Ковалева Л.М. и соавт., 1995; Попа В.А., 1990].

Показано, что у детей с хроническим тонзиллитом в 40% случаев в миндалинах определяют золотистый стафилококк [Азаматова Э.К. и соавт., 2011]. В других работах при хроническом тонзиллите показана более высокая высеваемость стрептококков по сравнению со стафилококками. Так, выявление бета-гемолитического стрептококка группы А достигает 50% [Борисова О.Ю. и соавт., 2015; Гринчук О.Н. и соавт., 2012; Мальцева Г.С., 2007].

Грибы *Candida* выявлены в небных миндалинах и в группе контроля людей, и у больных хроническим тонзиллитом. Тем не менее, некоторые авторы высказывают мнение, что эти грибы способствуют хронизации воспаления небных миндалин [Заболотный Д.И., Мельников О.Ф., 1999; Кондратцова Т.П., 1979].

Наличие биопленок в криптах небных миндалин при хроническом тонзиллите является одним из факторов длительной персистенции бактерий с повышенной патогенностью и их резистентности к антибиотикам [Post J.C. et al., 2007].

Изучение микрофлоры небных миндалин в группе контроля людей и при хроническом тонзиллите показывает наличие стрептококков, стафилококков, грибов, вирусов. Специфических микроорганизмов, вызывающих хронический тонзиллит, не выявлено.

Считается, что переход от обычного обсеменения слизистой оболочки носоглотки, постоянно контактирующей с внешней средой, к воспалению небных миндалин происходит в результате нарушений барьеров врожденного и приобретенного иммунитета организма, вызванных, в том числе, и инфекционным фактором [Кондратцова Т.П., 1979; Константинова Н., Морозова С., 1999; Лопотко И.А., 1963; Мельников О.Ф., 1981; Пальчун В.Т., Сагалович Б.М., 1995; Преображенский Б.С., Попова Г.Н., 1970].

Достоверно известно, что в формировании осложнений хронического

тонзиллита играет основную роль бета-гемолитический стрептококк группы А [Bassili A. et al., 2002; Kaplan E.L., 1980]. Таким образом, при хроническом тонзиллите также, как и в группе контроля, регистрируется присутствие различных патогенных и непатогенных бактерий.

Патогенез хронического тонзиллита остается до конца не ясным. В настоящее время продолжает оставаться мнение о хроническом тонзиллите как инфекционном процессе, протекающем с участием аутомикрофлоры. Его возникновение опосредовано нарушениями баланса между потенциальной инфекционностью микроорганизмов, вегетирующих в лакунах небных миндалин, и общей неспецифической резистентностью организма [Лопотко И.А. 1963; Пальчун В.Т., Сагалович Б.М., 1995]. Имеются данные, что аллергия и чувствительность к различным видам аллергенов являются факторами риска гипертрофии небных миндалин у детей [Modrzyński M. et al., 2005].

Патофизиологические изменения при хроническом тонзиллите. Использование клинических признаков позволяет успешно осуществлять диагностику хронического тонзиллита. Для определения формы хронического тонзиллита (компенсированной или декомпенсированной) в настоящее время в основном используются анамнестические данные и результаты фарингоскопии. Однако оценка функционального состояния небных миндалин по анализу параметров иммунного ответа, факторов врожденного иммунитета и системы цитокинов, необходимая для выбора метода лечения, представляет определенные технологические и методические трудности [Заболотный Д.И., Мельников О.Ф., 1999, 2010; Мельников О.Ф., 1981; Мельников О.Ф. и соавт., 2015].

В результатах клинического анализа крови не выявлено каких-либо специфических признаков, характерных для хронического тонзиллита.

В работе Г.С. Мальцевой (2007) микробиологическое исследование небных миндалин выявило β -гемолитический стрептококк гр. А (БГСА) у 5,1% больных хроническим тонзиллитом. Повышенные уровни АСЛ-О в крови выявлены у 37,03%, а сенсибилизация к антигену БГСА в РТМЛ определена у 69% пациентов. На основании этих данных автор считает, что использование результатов

бактериологических исследований при диагностике БГСА-инфекции недостаточно, и в комплекс обследования следует включать помимо определения уровня АСЛ-О в крови и проведение РТМЛ с антигеном стрептококка.

Содержание С-реактивного белка в крови у больных хроническим тонзиллитом оказывается повышенным в малой части случаев [Тырнова Е.В., Мальцева Г.С., 2005]. Тем не менее, исследования, проведенные Г.С. Мальцевой и соавт. (2010), показали, что определение СРБ в комплексе с ревмофактором и АСЛ-О имеет важное значение для оценки риска развития осложнений, эффективности консервативного лечения и определения показаний для оперативного лечения.

Для выявления аутоиммунного поражения соединительной ткани как осложнения хронического тонзиллита определяют наличие ревматоидного фактора в крови больных. Однако диагностическое значение этого маркера аутоиммунного процесса невелико, т.к. ревматоидный фактор обнаруживается в крови больных только в течение года после появления клинических признаков ревматоидного артрита. Таким образом, этот показатель не связан с самим хроническим воспалением небных миндалин, а указывает на развитие возможных аутоиммунных осложнений [Данилов Л.А., 2013].

А.Е. Вершигора (1978) предложил методику получения и анализа клеточного состава мазков-отпечатков с небных миндалин для оценки их состояния при хроническом тонзиллите. Анализ отпечатков показал доминирование нейтрофильных лейкоцитов по сравнению с другими видами клеток, содержание которых отражает степень их миграции на поверхность небных миндалин и тяжесть воспалительного процесса.

Определение иммунологической функции небных миндалин предложили Е.Л. Попов и П.Н. Пуцина (1982, 1987). Этот комплексный лабораторный метод включает оценку клеточного состава и бактериологическое исследование лакун небных миндалин. Его применяют для диагностики декомпенсированной формы хронического тонзиллита, при которой в лакунах определяется сниженное содержание лимфоцитов и атипичная микрофлора. Однако у больных с

компенсированной формой и в группе контроля результаты этого исследования бывают похожими [Пружняк О.В., Колотилова Л.В., 1989]. Наиболее часто определение иммунологической функции небных миндалин используется для оценки динамики цитологических и бактериологических показателей в процессе лечения [Попа В.А., 1990].

Имеются результаты определения в крови показателей эндотоксикоза у больных хроническим тонзиллитом: среднемолекулярных пептидов, сорбционной способности эритроцитов, лактата [Желтова А.Н., 2011]. Однако эта методика не получила широкого распространения в связи с невысокими значениями этих показателей у большей части больных.

Изучение показателей общего иммунного статуса для определения форм хронического тонзиллита и диагностики заболевания в целом показало, что вне стадии обострения патологических изменений не выявлено [Заболотный Д.И., Мельников О.Ф., 1999].

Проведено исследование перекисного окисления липидов у больных хроническим тонзиллитом [Хламова О.Г. и соавт., 2011]. По мнению авторов, интенсивность процессов перекисного окисления липидов позволяет оценить состояние мембранных структур клеток небных миндалин. Однако, способы исследования перекисного окисления липидов не получили широкого применения в клинической лабораторной диагностике из-за трудоемкости и ряда технологических условий.

Таким образом, иммунологические исследования в крови С-реактивного белка, антистрептолизина О, ревматоидного фактора, анализ мазков-отпечатков небных миндалин, выполнение клинических лабораторных исследований, определение иммунологической функции небных миндалин по результатам бактериологического и цитологического анализа содержимого лакун не обеспечивают полного представления о патологических изменениях и не позволяют оценить их состояние, а также эффективность проводимого лечения [Константинова Н., Морозова С., 1999; Попа В.А., 1990; Тырнова Е.В., Мальцева Г.С., 2005].

Небные миндалины при хроническом тонзиллите часто сохраняют функцию иммунокомпетентных органов и продолжают участвовать в защитно-приспособительной реакции организма [Мельников О.Ф., 1981]. В работе Г.С. Мальцевой (2008) установлено, что существенное снижение иммунологической функции небных миндалин (метод Е.Л. Попова, 1982) может встречаться при компенсированной и декомпенсированной клинических формах хронического тонзиллита. Эти данные обуславливают актуальность поиска диагностического подхода, который позволил бы оценивать степень угнетения иммунологической функции небных миндалин для определения стратегии и тактики лечения больных хроническим тонзиллитом.

1.2. Метаболомный анализ

Физиологические изменения, а также развитие патологических процессов сопровождаются изменениями состава биологических жидкостей организма человека, поэтому они давно является предметом научных и практических исследований. Одним из направлений таких исследований стала метаболомика, которая изучает конечные и промежуточные продукты обмена веществ в организме и систематизирует данные о спектре метаболитов [Kaddurah-Daouk R. et al., 2008]. Характер обмена веществ генетически детерминирован. Однако, в отличие от генетической информации метаболические показатели подвержены влиянию факторов окружающей среды [Lankadurai B.P. et al., 2013], зависят от образа жизни и характера питания людей, от состояния здоровья и, таким образом, изменяются во времени [Ellis J. et al., 2012]. Метаболомный анализ в настоящее время рассматривается как одно из самых перспективных направлений развития молекулярных методов в области системной биологии.

Метаболомика считается относительно новым направлением в медицине, однако первые опыты метаболических исследований проводились еще в XV – XX веках до н.э. китайскими врачами, которые определяли содержание глюкозы в моче в целях диагностики диабета, причем в качестве «лабораторного инструмента» использовали муравьев [Van der Greef J. et al., 2005]. Комплексная

оценка запаха, вкуса и цвета мочи были использованы и в средние века для диагностики заболеваний, при которых происходят метаболические нарушения [Nicholson J.K. et al., 2008].

В конце 40-х годов XX века Роджер Уильямс и его коллеги методом бумажной хроматографии определили, что спектры метаболитов значительно отличались у различных субъектов, но были относительно постоянными для каждого индивида. На основании результатов этих исследований они предположили, что для каждого человека по анализу его биологических жидкостей можно создать метаболический портрет, подобный по индивидуальности отпечаткам пальцев [Gates S.C. et al., 1978]. Это была очень важная для практической медицины идея, т.к. индивидуальный метаболический портрет каждого пациента предполагает и персонализированные схемы лечения.

Более того, были получены предварительные данные, свидетельствующие, что для каждого вида патологии человека может быть определен специфический метаболический профиль. Начиная с 1960-х годов, применение газовой хроматографии, жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии позволило не только качественно, но и количественно оценивать метаболические профили в крови, моче и экстрактах тканей человека [Horning E.C. et al., 1971; Griffiths W.J. et al., 2009].

Метаболиты – это молекулярные продукты жизнедеятельности клеток, поэтому метаболический профиль биологических жидкостей и экстрактов тканей является объективным отражением физиологических процессов, протекающих в организме, с их подробной детализацией до конкретных ферментов. На сегодняшний день не подлежит сомнению, что развитие патологических процессов, а также экзогенные воздействия, включая прием лекарственных средств, оказывают влияние на метаболические профили. Следовательно, проведение идентификации и количественного анализа метаболитов в организме человека позволит более детально получить представление об этиологии и патогенезе заболеваний и более точно осуществлять их диагностику [Dummer J. et al., 2011; Shirasu M. et al., 2011].

Во многих областях медицины наблюдается растущий интерес к патогенетическому анализу заболеваний на молекулярном уровне с целью разработки тактики лечения с учетом индивидуальных особенностей. Метабомика является новым аналитическим подходом, с помощью которого можно будет изучать характеристики различных фенотипов заболеваний и выявлять персональные метаболические особенности, позволяющие предсказать эффективность терапии. На основании всестороннего анализа метаболитов появляется возможность формировать метаболический профиль данного образца. Эти метаболические «отпечатки пальцев» могут быть использованы для различения фенотипов болезни и прогноза эффективности или токсичности лекарственных препаратов для конкретного пациента [Baraldi E. et al., 2009].

Анализ газового состава выдыхаемого воздуха. Одним из направлений метаболомики является изучение выдыхаемого воздуха, который отличается от вдыхаемого воздуха не только измененной концентрацией кислорода и двуокиси углерода, но и содержанием органических компонентов. Во время газообмена в легких выдыхаемый воздух обогащается огромным количеством летучих органических соединений (ЛОС), которые поступают из крови через альвеолярно-капиллярную мембрану. Они представлены ацетоном, метанолом, этанолом, альдегидами и прочими органическими веществами в нано- и пикомолярных концентрациях [Amann A., Smith D., 2013]. Эти ЛОС продуцируются в организме человека с участием многих биохимических процессов, большинство из которых связаны с окислительным стрессом, цитохромом P450, ферментами печени, углеводным и липидным обменами [Nakim M. et al., 2012]. Из мест продукции летучие органические соединения поэтапно проникают из клеток и тканей в кровь [Broza Y.Y. et al., 2014].

С потоком выдыхаемого воздуха в аэрозольных каплях переносятся и нелетучие органические компоненты как отдельные молекулы белков, пептидов, липидов, так и вирусы, бактерии, клетки дыхательных путей.

Оценка запаха выдыхаемого воздуха использовалась для диагностики заболеваний еще в древней Греции и Китае, начиная с 2000 г. до н.э. [Mitruka

В.М., 1975]. История анализа выдыхаемого воздуха берет начало в XVIII в., когда Антуан Лавуазье (1777 – 1783 гг.) обнаружил углекислый газ. Затем Вильгельм Петтерс (1857) выявил ацетон, а Йоханнес Мюллер (1898) провел количественные измерения ацетона. Первый современный анализ выдыхаемого воздуха выполнил Лайнус Полинг в 1971 г., который с помощью газожидкостной распределительной хроматографии количественно определил в нем около 250 летучих веществ [Pauling L. et al., 1971].

В настоящее время в выдыхаемом воздухе выявлены сотни различных эндогенных и экзогенных химических веществ. Так, исследование с помощью газовой хроматографии и масс-спектропии позволило идентифицировать 3481 различных летучих органических соединений [Phillips M. et al., 1999], что сопоставимо с общим количеством метаболитов в организме человека. Часть летучих метаболитов выдыхаемого воздуха имеет важное диагностическое значение. В первую очередь, этот аналитический метод был применен для изучения патологии дыхательных путей. Анализ летучих веществ оказался полезным в диагностике хронической обструктивной болезни легких [Martinez-Lozano Sinues P. et al., 2014;], бронхиальной астмы [Bannier M.A. et al., 2015], рака легких [Mazzone P.J. et al., 2015], легочных инфекций [Chambers S.T. et al., 2012].

Однако, и при локализации патологического процесса, не связанного с дыхательными путями, в выдыхаемом воздухе были также выявлены характерные спектры метаболитов, в т.ч. при заболеваниях ЖКТ и печени [Probert C.S. et al., 2009], сахарном диабете [Novak B.J. et al., 2007], шизофрении [Phillips M. et al., 1993], ревматоидном артрите [Humad S. et al., 1988], злокачественных новообразованиях [Queralto N. et al., 2014], сердечно-сосудистой недостаточности [Samara M.A. et al., 2013].

Вместе с тем работы, посвященные исследованию выдыхаемого воздуха при патологии лимфоэпителиального глоточного кольца, отсутствуют.

EN-технология. В настоящее время использование масс-спектрометров позволяет проводить идентификацию компонентов выдыхаемого воздуха с высокой точностью и в большом диапазоне молекулярных масс. Однако, данные

анализаторы громоздки и очень дороги, кроме того, для их эксплуатации требуются специалисты, имеющие техническое образование. Это делает их непригодными для широкого использования в практической медицине.

Электронный нос (E-nose, EN) является принятым термином, обозначающим компактный и относительно недорогой анализатор, который состоит из химических сенсоров и системы распознавания [Gardner J.W., Bartlett P.N., 1994]. Обратимая адсорбция летучих органических соединений на поверхности датчиков приводит к изменению их физических свойств, которые регистрируются. Основным замыслом технологии электронного носа является имитация обонятельной системы человека, заключающаяся в анализе и характеристике сложных запахов без разделения смеси на отдельные компоненты.

EN-технология была использована для анализа выдыхаемого воздуха первоначально в научно-исследовательских целях [Wilson A.D., Baietto M., 2011]. Было продемонстрировано, что компактность и простота использования EN-технологии делают ее альтернативой методу масс-спектрометрии. Предварительные результаты исследований показали возможность идентификации патогенных микроорганизмов в клинических образцах с помощью электронного носа [Pavlou A.K. et al., 2004]. Так, специфичность и чувствительность данного способа выявления *Mycobacterium spp.* в образцах мокроты больных по сравнению с культуральным методом составили 91% и 89%, соответственно [Fend R. et al., 2006]. Имеются успешные результаты определения бактериальной колонизации дыхательных путей у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких [Sibila O. et al., 2014].

К настоящему времени имеется большой опыт изучения пригодности EN-технологии для диагностики ряда заболеваний человека [Arasaradnam R.P. et al., 2014], в том числе различных видов легочной патологии [Scarlata S. et al., 2015], рака легких [Queralto N. et al., 2014], бронхиальной астмы [Dragonieri S. et al., 2007], туберкулеза и других инфекций [Bruins M. et al., 2013], а также для дифференциальной диагностики патологии легких [Fens N. et al., 2009].

Несмотря на отсутствие специфического дискриминационного биомаркера для каждого вида патологии, исследования, проведенные с использованием EN-технологии, доказывают, что выдыхаемый воздух различается у пациентов с определенным заболеванием и в группе контроля людей. Эти результаты позволяют предположить, что заболевания характеризуются отличительным «отпечатком дыхания» (по аналогии с отпечатками пальцев), картина которого основана не на отдельных маркерах, а на метаболических профилях многочисленных ЛОС.

Благодаря сжатости сроков проведения, а также неинвазивности, безопасности и безболезненности получения образцов для исследования и отсутствию процедуры пробоподготовки, анализ выдыхаемого воздуха имеет существенное преимущество по сравнению с анализом тканей и биологических жидкостей. Немаловажно и то обстоятельство, что для данного вида исследований не требуются реагенты. Анализ содержания ЛОС в выдыхаемом воздухе может служить индикатором метаболического статуса, что позволяет отличать здоровых и больных субъектов. Таким образом, эти методы имеют существенный потенциал для выявления заболеваний на ранних стадиях [Lourenço C., Turner C., 2014].

Спектр летучих соединений в выдыхаемом воздухе при заболеваниях ЛОР-органов.

Работ, посвященных анализу выдыхаемого воздуха при заболеваниях ЛОР-органов, крайне мало. Так, в выдыхаемом воздухе больных синуситами и аллергическими ринитами было обнаружено повышение окиси азота (NO), которая имеет важное значение для мукоцилиарной активности мерцательного эпителия [Alving K., 1999].

Е.И. Mohamed и соавт. (2003) впервые применили технологию электронного носа для обследования больных с хроническим риносинуситом. Был определен характерный спектр веществ выдыхаемого воздуха, отличный от спектра здоровых людей.

Изученные данные литературы свидетельствуют об эффективности методов

анализа выдыхаемого воздуха у больных при различных видах патологии, в том числе ЛОР-органов. Вместе с тем отсутствуют результаты анализа выдыхаемого воздуха у больных при хроническом тонзиллите, поэтому такое исследование с помощью EN-технологии представляется весьма перспективным.

1.3. Анализ параметров твердофазных состояний биологических жидкостей при хроническом гнойном среднем отите

Холестеатома среднего уха. В XVII в. французский анатом J.G. Du Verney впервые сообщил о симптомах, характерных для холестеатомы [Du Verney J.G., 1683]. Позже холестеатома была описана французским патологом Ж. Крювелье [Cruveilhier J., 1829]. В соответствие с беловато-перламутровым внешним видом и многослойной структурой он дал ей название «жемчужная опухоль». Термин «холестеатома» (Chole – холестерин; steat – жир; oma – опухоль) ввел немецкий патологоанатом Й. Мюллер (J. Muller) в 1838 г. [Soldati D., Mudry A., 2001]. Однако, не только лечение больных, но и диагностика этой патологии до настоящего времени представляет определенные трудности [Dornelles C. et al., 2005; Isaacson G., 2007].

Холестеатома является производным ороговевающего многослойного эпителия, представляющим собой эпидермоидную кисту. Новообразование характеризуется агрессивным ростом, сопровождающимся деструкцией окружающих тканей, прежде всего костной ткани [Semaan M.T., Megerian C.A., 2006]. Молекулярные механизмы, лежащие в основе образования и распространения холестеатомы, до настоящего времени неясны [Maniu A. et al., 2014].

Диагностика холестеатомы среднего уха. Снижение слуха является основным симптомом при холестеатоме, однако, оно может быть вызвано другими причинами [McRackan T.R. et al., 2011]. Вместе с тем, холестеатомы размером 2 – 3 мм могут не вызывать снижения слуха [Barakate M, Bottrill I., 2008]. Другие симптомы – головокружение, парез лицевого нерва и гноетечение – также могут присутствовать при других патологических процессах [Artuso A. et

al., 2004]. Таким образом, патогномоничных симптомов для холестеатомы пока не определено.

Методом отомикроскопии выявить холестеатому на ранних сроках развития удастся далеко не всегда [Ayache S. et al., 2008].

Исследование височной кости рентгенологическим методом наиболее часто применяется для диагностики холестеатомного и кариозных процессов при хронических гнойных средних отитах. Вместе с тем, в ряде случаев невозможно провести точную дифференцировку между холестеатомой и рубцовой тканью [Tierney P.A. et al., 1999]. При сравнении данных МРТ, МСКТ и ревизионного оперативного вмешательства корреляция выявляется только в половине случаев, в остальных случаях отмечены ложно-отрицательные и ложно-положительные результаты [Foer B. et al., 2010]. Н.С. Дмитриев (2001) и соавт. определили, что метод компьютерной томографии для выявления холестеатомы имеет чувствительность 71% (колебания от 56% до 89%) и специфичность 55% (колебания от 50% до 81%). Таким образом, рентгенологические методы диагностики холестеатомы имеют ограниченные возможности.

Другой способ диагностики холестеатомы среднего уха заключается в микроскопическом исследовании (цитологическом) отделяемого из полости среднего уха. Только в 40 – 50% случаев при наличии холестеатомы в препаратах определяются ее фрагменты в виде кристаллов холестерина, белковой аморфной субстанции [Теодор И.Л. и соавт., 1995]. Однако, в тех случаях, если отделяемое из уха отсутствует ("сухая" холестеатома), цитологическая диагностика становится неинформативной.

Значение холестерина в холестеатоме. Внимание исследователей привлекало содержание холестерина в составе холестеатомы [Погосов В.С., 1956]. Работы по этому вопросу были посвящены изучению количества холестерина в холестеатоме, механизма его образования и роли в деструкции тканей. Существует химическая теория, объясняющая механизм разрушения кости за счет химической активности веществ, содержащихся в холестеатоме [Suchozebrska-Jesionek D. et al., 2008].

И.В. Иванец (1992) утверждает, что деструктивный характер холестеатомы обусловлен ее биохимическим составом, включающим аминокислоты, углеводы, холестерин, высшие жирные и летучие кислоты.

Холестерин и прочие липиды имеют структурное и метаболическое значение, вместе с тем они представляют собой энергетический запас. Присутствие холестерина в холестеатоме среднего уха, скорее всего, не случайно и, возможно, связано с некоторыми особенностями метаболических процессов в организме в целом. В этом смысле интересно наблюдение В.П. Ситникова (1985) о низком уровне встречаемости холестеатомы среди коренных народностей Крайнего Севера. Автором высказано предположение, что причина этого феномена обусловлена особенностями питания местного населения, включающего сырую рыбу, и, как следствие, отличиями липидного обмена.

Морфологический анализ биологических жидкостей. Одним из перспективных разделов лабораторной диагностики считается изучение процессов, протекающих при высушивании биологических жидкостей. Анализ состава биологических жидкостей традиционными методами позволяет определять количественный состав конкретных метаболитов организма человека, представляющих диагностический интерес. При разделении сложных жидких систем на отдельные составляющие не представляется возможным оценивать их взаимосвязи. Процесс высушивания (дегидратации) образцов биологических жидкостей и образования твердой структуры (фаций) протекает с учетом данных взаимосвязей. Морфологический анализ (микроскопия) фаций позволяет получить более интегральную информацию о состоянии организма [Максимов С.А., 2007].

Физиологические процессы в организме протекают с участием белков и других органических веществ, имеющих специфические особенности своей структуры. Патологические процессы сопровождаются изменением таковых особенностей. В результате так называемой «самоорганизации», происходящей при клиновидной или краевой дегидратации биологических жидкостей, изменения микроструктур этих молекул обуславливают специфическую

макрокартину образца, доступную при визуальном анализе. Получаемые объективные лабораторные данные позволяют выявлять патологические отклонения на ранних этапах, что не всегда представляется возможным при использовании других современных методов исследования.

Информативность морфологического анализа биологических жидкостей сочетается с простотой постановки и экономичностью, что делает эти методы самыми оптимальными для исследования полученного материала.

«Одной из первых работ по кристаллизации биологической жидкости является статья A.F. de Fourcroy и L.N. Vauquelin (1791), в которой авторы описали кристаллизацию слезы... В 1950 г. V. Donadio применил кристаллизационный метод при исследовании сыворотки крови при туберкулезе ... A. Sole (1951) исследовал кристаллизацию на стекле образцов целого ряда биологических жидкостей: сыворотку крови, спинномозговую жидкость, молоко, слезу.» [Краевой, С.А. Кристаллизация сыворотки крови методом открытой капли (угловая дегидратация). Кн. 1 / С.А. Краевой, Н.А. Колтовой. – Москва–Смоленск: Электронный математический и медико–биологический журнал "Математическая морфология", 2016. – С. 10, 12].

Сотрудники МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (г. Москва) с помощью тизиграфического метода, заключающегося в добавлении хлорида меди или натрия в анализируемые биологические жидкости, в 1980-х гг. провели ряд обобщающих кристаллографических исследований у больных с различными видами патологии [Мороз Л.А. и соавт., 1981; Каликштейн Д.Б. и соавт., 1990].

В.Н. Шабалин и С.Н. Шатохина (1996, 2001) объяснили этот процесс с использованием положений физической химии, кристаллографии и синергетики. Этими авторами был разработан методологический подход к исследованию морфологических структур биологических жидкостей без добавления кристаллообразующего вещества, конкретно методы клиновидной и краевой дегидратации. Авторами были выявлены основные закономерности формирования структур твердой фазы различных биологических жидкостей, дана классификация и предметное описание системных и локальных особенностей.

Показано, что морфологическая картина биологических жидкостей адекватно отражает как физиологические, так и патологические изменения, происходящие в организме.

Теоретической основой данного метода явилось учение лауреата нобелевской премии И. Пригожина [Nicolis G., Prigogine I., 1977], а также Г. Хакена [Haken H., 1988] и П. Эткинса [Atkins P.W., 1984]. С позиций квантовой физики представлено теоретическое обоснование фундаментальных механизмов формирования структур биологических жидкостей, в котором подчеркивается основная роль аутоволновых взаимодействий в морфогенезе биологических систем [Шабалин В.Н., Шатохина С.Н., 2000].

Метод клиновидной дегидратации, несмотря на ряд вопросов, является наиболее широко используемым в медицинских исследованиях [Максимов С.А., 2007]. Ряд исследований посвящен морфологии биологических жидкостей в гастроэнтерологии [Потехина Ю.П. и соавт., 2001], в офтальмологии [Белоглазов В.Г. и соавт., 2003], нефрологии [Дасаева Л.А. и соавт., 2003, Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., 1998].

Изменения морфологических показателей биологических жидкостей при холестеатоме. Изучение этих показателей при заболеваниях уха, горла, носа впервые было проведено в МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского в отделении оториноларингологии под руководством В.Г. Зенгера. Была показана возможность использования этой методологии при диагностике заболеваний ЛОР-органов.

В.И. Самбулов и соавт. (1999) предложили способ диагностики холестеатомы среднего уха у детей с использованием метода морфологического анализа слюны. В.И. Самбуловым (2003) определены характерные детали морфологической картины препаратов третьей порции слюны (после транстимпанального нагнетания воздуха в наружный слуховой проход, стимулирующего эвакуацию содержимого барабанной полости через слуховую трубу), которые связаны с холестеатомным процессом:

1) пластинчатые морфотипы в препарате, приготовленном методом краевой дегидратации;

2) трехлучевые трещины в периферической зоне препарата, приготовленного методом клиновидной дегидратации.

Пластинчатый морфотип признан кристаллами холестерина, которые образуются в результате деструктивных процессов в тканях, а также при разложении остатков пищи в полости рта. Трехлучевые трещины в краевой зоне препаратов слюны, приготовленных методом клиновидной дегидратации, считаются маркером застойных процессов [Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., 2001].

Препарат образца слюны пациента готовили методом краевой дегидратации. Выявление кристаллов холестерина при поляризационно-оптической микроскопии препарата является свидетельством холестеатомы среднего уха. Получение материала для исследования не составляет затруднений, неинвазивно.

Способ диагностики холестеатомы среднего уха, по мнению авторов, информативен в 82,6% случаях [Самбулов В.И. и соавт., 1999]. Недостатком данного способа явилось то, что не всегда в слюне имелось необходимое количество диагностического материала, в связи с чем, исследование приходится неоднократно повторять. Кроме того, при использовании данного способа судить о характере холестеатомы было крайне затруднительно.

Поэтому в целях повышения достоверности определения наличия холестеатомы В.И. Самбулов и соавт. (2001) предложили новый способ диагностики холестеатомы у детей. Автором было достигнуто получение более представительной пробы слюны с точки зрения наличия в ней диагностического материала за счет жевания больным жевательной резинки в течение 10 – 15 минут, при котором происходит более интенсивная эвакуация содержимого полости среднего уха через слуховую трубу в полость рта. Кроме того, при микроскопическом исследовании высушенного препарата обогащенной слюны автор предложил определять дополнительные включения в кристаллы холестерина в виде инородных структур, наличие которых позволяет судить о степени агрессивности холестеатомного процесса в полости среднего уха. Однако в работе В.И. Самбулова (2003) были обследованы только дети.

Таким образом, морфологический анализ самоорганизации биологических жидкостей нашел достаточно широкое применение в клинической лабораторной диагностике, что объясняется его методической простотой, дешевизной, высокой чувствительностью и информативностью. Однако, в специальной литературе сведений об использовании морфологического анализа самоорганизации биологических жидкостей для диагностики холестеатомы у взрослых больных крайне мало, а публикации на тему морфологического исследования структур твердой фазы биологического материала, полученного из полости среднего уха, отсутствуют.

1.4. Патофизиологические изменения системы иммунитета при воспалительных заболеваниях ЛОР-органов

Нарушения иммунологической резистентности организма в патогенезе наружных отитов. Врожденный иммунитет обеспечивает быструю и эффективную защиту организма от микробного вторжения готовыми к действию механизмами, которые не зависят от предварительного воздействия патогенов [Hoffman J. et al., 1999]. Кровь содержит важные факторы, которые опосредуют быструю ответную реакцию на инфекцию. Медиаторы врожденного иммунитета продуцируются клетками крови и печенью, откуда попадают в плазму крови [Хаитов Р.М., 2016]. Иммунные механизмы в коже и слизистых оболочках, контактирующих с внешней средой, являются первым барьером для бактериальной инфекции [Караулов А.В. и соавт., 2012].

Вместе с тем, отечественные и зарубежные оториноларингологи при лечении больных с бактериальными наружными отитами предпочитают применять антибактериальные препараты с целью подавления микрофлоры, почти не принимают во внимание состояние иммунитета, внутренних механизмов резистенции и не оценивают необходимость их коррекции [Поливода А.М., 2006; Плужников М.С. и соавт., 2008; Овчинников А.Ю., Егиян С.С., 2016; Федорова О.В., Шадрин Г.Б., 2016; Jerzsele Á., Pásztiiné-Gere E., 2015; Lorente J. et al., 2014; Pane G. et al., 2015]. Определение состояния иммунных механизмов защиты в

настоящее время осуществимо, а его результаты могут служить основанием для выбора и назначения иммунотерапии [Никулин Б.А., 2008; Плужников М.С. и соавт., 2008; Хаитов Р.М. и соавт., 2009]. При этом важно изучать показатели в динамике, в том числе в процессе лечения.

Определение таких показателей, как содержание лейкоцитов в крови и лейкоцитарная формула, в настоящее время не имеет существенного значения вследствие распространенного применения антибиотиков, обладающих иммуносупрессивным эффектом, а также стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов [Янов Ю.К., Антушева И.А., 2004].

Показатели субпопуляций лимфоцитов также не позволяют оценить степень нарушения иммунологической резистентности при наружных бактериальных отитах, поскольку локальный характер патологии не влияет на них.

Изучение показателей фагоцитоза является более информативным тестом. Фагоцитоз – древнейшая неспецифическая форма защиты организма от инфекционных и инородных неинфекционных агентов [Долгушин И.И., Бухарин О.В., 2001, 2009]. Результатом фагоцитоза является полное биохимическое расщепление как бактериальных клеток, так и молекулярных комплексов [Сбойчаков В.Б. и соавт., 2015; Хаитов Р.М., 2016]. Фагоцитирующие клетки участвуют и в индукции специфического иммунного ответа. Нейтрофилы крови активно поглощают и инактивируют различные антигены, используя в этом процессе рецепторы TLR, которые являются одними из основных сигнальных рецепторов, экспрессируемых нейтрофилами [Giraldo D.M. et al., 2016; Hayashi F. et al., 2003; Sabroe I. et al., 2003; Vasselon T., Detmers P.A., 2002]. Эти рецепторы имеют способность связываться с компонентами бактерий, а также с эндогенными факторами: белком теплового шока (БТШ60), фибронектином, продуктами цитолиза с последующей активацией продукции провоспалительных и иммунорегуляторных цитокинов [Бурместер Г.-Р., Пецутто А., 2007; Мейл Д., 2007; Рабсон А. и соавт., 2006; Triantafilov M., Triantafilov K., 2002; Underhill D., Ozinsky A., 2002].

Фагоцитарная дисфункция нейтрофилов крови выявляется при патологии кожи и слизистых оболочек [Караулов А.В. и соавт., 2012]. Работы, содержащие сведения об угнетении фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови, малочисленны и посвящены изучению только двух нозологических единиц – рецидивирующего ограниченного наружного отита (фурункул) [Гетте В.А., Бараненко В.В., 1982] и отомикоза [Павленко С.А. и соавт., 2003]. Сведений о фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови при бактериальном наружном диффузном отите в литературе не имеется.

В оценке системы иммунитета сохраняется актуальность определения уровня в крови и соотношения классов иммуноглобулинов А, G, М, Е [Никулин Б.А., 2008; Новиков Д.К., Новиков П.Д., 2009]. Однако такие данные отсутствуют при бактериальных воспалительных заболеваниях наружного слухового прохода.

В организме имеются иммунологические реактанты, которые входят в различные системы организма, в том числе адаптационно-компенсаторные, и отражают их состояние. К этим веществам относятся белки острой фазы, в частности С-реактивный белок и белок, связывающий липополисахарид (LBP). Указанные белки синтезируются в печени, обеспечивают транспорт различных веществ и участвуют в процессах детоксикации [Кокряков В.Н., 1999; Вельков В.В., 2008].

С-реактивный белок является не только чувствительным маркером воспаления, но и важным связующим элементом между различными реактантами в развитии воспалительного процесса. Активация системы комплемента и все последующие процессы, включая хемотаксис, адгезию и фагоцитоз, и кроме того изменение функционального состояния тромбоцитов и клеток системы иммунитета осуществляется с участием СРБ (Титов В. Н., 2004; Балябина М.Д. и соавт., 2007). Динамика роста СРБ в крови весьма масштабна – от следовых значений (мг/л) в норме до тысячекратного увеличения при остром воспалении.

Исследование С-реактивного белка позволяет определить степень воспалительных процессов и результативность методов лечения [Титов В.Н., 2004]. Помимо использования С-реактивного белка как маркера степени

воспалительного процесса, этот показатель применяют для диагностики бактериемии [Shaoul R. et al., 2008]. Вместе с тем, участие С-реактивного белка в патогенезе наружных отитов остается неизученным.

Другой острофазовый белок LBP связывается с ЛПС после его высвобождения из клеточной мембраны бактерий. Образованный комплекс попадает в печень и взаимодействует с макрофагами. Последующие взаимодействия регуляторных и эффекторных молекул приводят к продукции цитокинов (IL-1, IL-6, TNF- α) и других медиаторов воспаления, активации фагоцитоза и многих других механизмов врожденного иммунитета [Кокряков В.Н., 2006; Iwasaki A., Medzhitov R., 2004; Kopp F. et al., 2016; Schumann R.R., 2011].

Острая фаза воспаления сопровождается увеличением концентрации LBP в крови более чем в 30 раз. Такое активное участие в процессе воспаления позволяет использовать LBP для мониторинга лечения многих заболеваний [Scott M.G. et al., 2000]. Вместе с тем, не имеется данных, касающихся изучения уровней LBP у пациентов с бактериальными наружными отитами. Вообще изучению факторов иммунитета при наружных отитах посвящены только единичные работы. При этом исследования были направлены на определение показателей иммунитета при фурункулезе наружного слухового прохода и отомикозах [Богоманова Д.Н., Азнабаева Л.Ф., 1994; Карабаева Х.Э., 1997; Курдина М.И., 2002; Павленко С.А. и соавт., 2003]. Таким образом, нарушения механизмов иммунитета при наружных бактериальных отитах продолжают оставаться малоизученными.

Антимикробные белки и пептиды при патологии ЛОР-органов. В настоящее время активно развивается новое направление в иммунологии – изучение антимикробных белков и пептидов, которые являются важными и древнейшими компонентами врожденного иммунитета [Кокряков В.Н. и соавт., 2006, 2009; Yang D. et al., 2001; Zhang X. et al., 2016]. Это активно изучаемые вещества, имеющие перспективу применения как естественных антибактериальных препаратов. Известны несколько групп антимикробных

белков и пептидов, из которых более изучены дефенсины и кателицидины нейтрофилов крови человека, а также BRI-белки (белки, повышающие проницаемость бактериальной стенки).

Начало поиска веществ организма, обладающих свойствами антибиотиков, относится к периоду становления иммунологии в качестве отдельного направления в медицине и биологии. В фагоцитарной теории иммунитета И.И. Мечникова (1892) была выделена ключевая роль микро- и макрофагов в формировании резистентности организма к бактериям и грибам. Им же была сформулирована концепция о цитазах лейкоцитов – бактерицидных соединениях, обеспечивающих инактивацию и переваривание фагоцитированных микроорганизмов [Мечников И.И., 1903]. Эта концепция получила фактическое подтверждение в 1905 г., когда из лейкоцитов гноя человека были выделены антимикробные субстанции, которые представляли смесь щелочных (катионных, основных) протеинов [Pettersen A., 1905].

Во второй половине XX в. в лейкоцитах морской свинки и кролика были обнаружены цистеинсодержащие антибиотические пептиды, обладающие широким спектром антимикробного действия [Zeya H.I., Spitznagel J.K., 1963]. Спустя 20 лет была изучена первичная структура этих пептидов и введен термин «дефенсины», отражающий их функциональное назначение – защиту организма от возбудителей инфекционных болезней [Ganz T. et al., 1985]. Присутствие дефенсинов в эпителии и иммунокомпетентных клетках свидетельствуют об их важной роли в реализации различных защитно-приспособительных реакций организма [Chen H. et al., 2006].

Бактерицидное и цитотоксическое действия антимикробных пептидов опосредованы их способностью перфорировать клеточные мембраны [Lehrer R.I. et al., 1993]. Наличие суммарного положительного заряда дефенсинов обеспечивает их начальное электростатическое взаимодействие с отрицательно заряженными мембранами микроорганизмов, а гидрофобность молекул обуславливает возможность их проникновения в липидный бислой мембран, что в значительной степени способствует проявлению их антимикробных свойств в

отношении бактерий, низших грибов, простейших и оболочечных вирусов [Lehrer R.I., Ganz T., 2002].

Дефенсины человека имеют два подсемейства: α - и β -дефенсины. Их объединяют катионные свойства, а отличия заключаются в размерах, структуре и свойствах молекул, а также в положении дисульфидных связей [Пантелеев П.В. и соавт., 2015; Diamond G. et al., 1991].

В организме человека одним из наиболее распространенных видов антимикробных пептидов являются альфа-дефенсины [Selsted M.E., Ouellette A.J., 2005; Wilson S.S. et al., 2013]. К ним относятся HNP (human neutrophil peptides), которые присутствуют в азурофильных гранулах нейтрофилов и высвобождаются при стимуляции нейтрофилов, а также содержатся и в некоторых других клетках системы иммунитета и клетках эпителия [Ayabe T. et al., 2000; Cole A.M. et al., 2001]. К альфа-дефенсином относятся и HD (human defensins), продуцируемые клетками Панета тонкой кишки человека (HD-5, HD-6) [Ouellette A.J., 1999; Porter E. M. et al., 1997]. Секрецию α -дефенсинов клетками Панета вызывают бактерии и их компоненты, причем уровень ответа зависит от длительности воздействия и дозы [Becker M.N. et al., 2000]. Показано, что α -дефенсины способны связывать липополисахариды [Morrison G. M. et al., 1999; Scott M.G. et al., 2000].

β -дефенсины человека имеют шесть разновидностей (HBD-1 – HBD -6) [Леонова Л.Е., 2009; Pazgier M. et al., 2006]. HBD-1 присутствует в крови и экспрессируется эпителиальными клетками [Harder J. et al., 1997; Schutte B.C., McCray P.B., 2002]. HBD-2 экспрессируется не только в присутствии микроорганизмов, но и провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α и IL-1 β и др. [Dhople V. et al., 2006; Diamond G., Bevins C.L., 1998; Harder J. et al., 2001].

Помимо антимикробной активности дефенсины обладают рядом свойств, реализуемых при многих физиологических процессах [Леонова Л.Е., 2009; Dhople V. et al., 2006; Hölzl M.A. et al., 2008]. HNP-1 и HNP-2 активируют хемотаксис моноцитов и направляют моноциты в очаг инфекции [Agerberth B. et al., 2000], а также взаимодействуют с компонентами системы комплемента [Groeneveld T.W. et al., 2007].

α - и β -дефенсины взаимодействуют с хемокиновыми рецепторами в концентрациях на 1 – 2 порядка ниже, чем уровни, обеспечивающие их антимикробную активность [Cole A.M. et al., 2001; Schneider J.J. et al., 2005;]. При очаговой склеродермии отмечен высокий уровень противомикробного пептида HBD-1, что связывают с его способностью усиливать фибробластические процессы [Ганковская Л.В. и соавт., 2015].

Помимо антимикробной активности, дефенсины нейтрофилов человека обладают и противовирусными свойствами [Wang W. et al., 2004; Wua Z. et al., 2005], кроме того, они потенцируют гуморальный ответ при энтеровирусной инфекции, т.е. выполняют роль адъювантов [Gounder A.P. et al., 2016].

Другой распространенной группой антибиотических пептидов являются кателицидины. К семейству кателицидинов относится ряд пептидов, выявленных у млекопитающих животных, и пептид LL-37 человека [Agerberth B. et al., 1995]. LL-37 локализован в фагоцитах, обнаруживается в пероксидазоотрицательных гранулах нейтрофилов, в лимфоцитах и клетках барьерных эпителиев и проявляет антимикробную активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов, некоторых вирусов и простейших, что свидетельствует об его участии в защитных реакциях организма [Kokryakov V.N. et al., 1993]. LL-37 связывает липополисахарид, является важным фактором эпителизации и ангиогенеза, а также выступает в роли хемоаттрактанта для нейтрофилов, моноцитов и Т-лимфоцитов [Кокряков В.Н., 2006; Frohm M. et al., 1997].

При воспалении уровень LL-37 в крови повышается, но у пациентов с рецидивирующими воспалительными заболеваниями кожи его содержание снижено [Frohm M. et al., 1997; Ong P.Y. et al., 2002; Yang D. et al., 2004], что расценивается как предрасполагающий фактор для рецидивов и указывает на его важное значение в защите кожи от инфекции.

Кателицидин LL-37 проявляет отрицательное воздействие на респираторно-синцитиальный (РС) вирус с помощью прямого повреждения его оболочки и уменьшения его связывания с эпителиальными клетками человека *in vitro*. Кроме

того, применение экзогенного LL-37 защищает против инфекции РС-вируса на модели *in vivo* [Currie S.M. et al., 2016].

Антимикробными свойствами обладают и катионные белки семейства BPI (белки, повышающие проницаемость клеточной стенки). В организме человека BPI содержится в гранулах нейтрофилов и, в меньшей степени, эозинофилов, а также в коже. BPI, вырабатываемый нейтрофилами, имеет высокое сродство к ЛПС и бактериям, обладает бактерицидным действием и подавляет воспаление, блокируя доставку комплекса LBP-ЛПС к CD14 [Weiss J., 2003]. Основная роль BPI – участие в острой реакции организма на грамотрицательные бактерии или ЛПС в крови [Elsbach P., Weiss J., 1993].

BPI также содержится в клетках эпителия, которые взаимодействуют с бактериями. Как и в крови, он обладает бактерицидным действием и блокирует эндотоксины [Canny G. et al., 2006]. Провоспалительные медиаторы оказывают незначительное влияние на его экспрессию.

Исследования антимикробных пептидов проводили при различных видах патологии человека [Азизова Г.И. и соавт., 2014; Ивашова О.Н. и соавт., 2014; Казеко Л.А., 2016; Шабалина С.В. и соавт., 2015; Шишкова Ю.С. и соавт., 2013; Шуматова Т.А. и соавт., 2015; Эфендиев А.М.О., Хидаятова З.Г.К., 2015; Prats-Puig A. et al., 2016], в том числе при патологии ЛОР-органов. Показано, что уровень антимикробных пептидов повышается в крови больных с воспалительными процессами бактериальной этиологии (Ihi T. et al., 1997). Так, у детей с тяжелым и рецидивирующим течением паратонзиллита выявлено значительное увеличение концентрации нейтрофильных пептидов HNP1-3 в сыворотке крови, но в эпителиальных клетках слизистой оболочки небных миндалин показано снижение уровня экспрессии гена HBD-2 [Ланда Р.И. и соавт., 2011; Ланда Р.И., 2012]. В назальном секрете у больных круглогодичным аллергическим ринитом в сочетании с рецидивирующим синуситом выявлено снижение содержания лизоцима на фоне нормальных уровней HBD-2 и HNP-1 [Kalfa V.C. et al., 2004].

мРНК HNP-1, HBD-1 и HBD-2 были обнаружены в тканях небных миндалин, что указывает на продукцию в них альфа- и бета-дефенсинов. Это подтверждает важную роль небных миндалин в системе врожденного иммунитета. Благодаря секреции антимикробных белков, небные миндалины оказывают влияние на микробиоту слизистой оболочки глотки. У больных хроническим тонзиллитом экспрессия мРНК HBD-2 значимо возрастает [Weise J.B. et al., 2002].

Изучение связи дефенсинов и хемокинов в ткани небных миндалин показало, что при остром воспалении происходит повышение экспрессии мРНК HNP-4 и хемокина эотаксина-2. У больных хроническим тонзиллитом обнаружена положительная корреляция экспрессии HNP-4 и RANTES (регулируемый при активации, нормальной Т-клеточной экспрессии и секреции), HBD-2 и MCP-3 (хемотаксический протеин моноцитов), HNP-1 и HBD-2 с IL-8 [Meyer J.E. et al., 2006]. Эти данные демонстрируют связь между врожденным и приобретенным иммунитетом на уровне дефенсинов-хемокинов.

Однако подобных исследований при патологии кожи наружного слухового прохода пока нет.

Цитокины при отитах. При заболеваниях ЛОР-органов в первую очередь осуществляется местная регуляция процессов при участии различных типов клеток [Завгородняя Е.Г., 2008]. Местные воспалительные процессы, как правило, сопровождаются повышением продукции IL-1, который опосредует запуск важных этапов иммунного ответа. Вместе с тем, в ряде случаев его уровень является недостаточным для формирования адекватной иммунной реакции, что, по-видимому, способствует хронизации воспалительного процесса [Симбирцев А.С., 1999]. Так, при остром отите в гнойных экссудатах выявлено более высокое содержание IL-1 β , чем в экссудатах серозного и слизистого характера. При этом высокие уровни IL-1 β коррелируют с высоким уровнем нейтрофилов в отделяемом среднего уха [Himi T. et al., 1992].

TNF- α демонстрирует обратную динамику: у детей с хроническим экссудативным отитом его содержание в отделяемом выше, чем при остром отите

[Yellon R.F. et al., 1991]. Эти данные показывают роль IL-1 β как важного регулятора на ранних стадиях острого воспаления в барабанной полости, а высокие уровни TNF- α сопровождают затяжное течение воспалительного процесса. Кроме того, при обострении рецидивирующего среднего отита наблюдаются повышение уровня IL-1 β в экссудате [Yetiser S. et al., 2002].

Интерлейкин-8 (IL-8) имеет свойство хемотаксического фактора, который активирует миграцию нейтрофилов в очаг воспаления [Grevers G., Sturm C., 1997]. Во многих исследованиях при патологии ЛОР-органов выявлено локальное повышение содержания цитокина IL-8 [Demoly P. et al., 1997; Rudack C. et al., 1998]. Так, IL-8 выявляется в экссудате среднего уха у детей с хроническим секреторным отитом наряду с IL-1 β и TNF- α , обладающими свойством индукторов IL-8 [McCormick D.P. et al., 2011]. Однако в отделяемом среднего уха у детей с секреторным отитом выявлена меньшая концентрация IL-8 по сравнению с пациентами с ОСО. Более того, снижение содержания IL-8 коррелировало с увеличением длительности заболевания [Storgaard M. et al., 1997].

Другие авторы сообщают о более высоких концентрациях IL-8 в отделяемом из среднего уха при хронических слизистых отитах по сравнению с серозными и гнойными [Pospiech L. et al., 2000]. Эти данные свидетельствуют об участии IL-8 в хронизации воспаления в среднем ухе.

Уровни IL-1, IL-6 и молекул клеточной адгезии VCAM в отделяемом среднего уха у детей, которые имели случаи ОСО в течение последних трех месяцев, были больше, чем у пациентов без таковых [Russo E.I. et al., 2004]. У пациентов детского возраста с рецидивирующими острыми отитами в отделяемом среднего уха выявлено увеличение уровня компонентов комплемента C3a и C5a, а также обнаружена корреляция C5a с IL-6 или IL-8 [Loos B.G. et al., 1989].

В крови больных хроническим экссудативным средним отитом выявлено увеличение содержания IL-4 [Qin C.H. et al., 2013]. Соотношение IFN- γ +клеток/IL-4+клеток было ниже у пациентов с хроническим средним отитом, что

свидетельствует о преобладании активности Th2 клеток (дисбалансе Th1/Th2) при хроническом среднем отите.

При рецидивирующих средних отитах наличие бактерий в экссудате сопровождается усилением воспаления в среднем ухе и повышением содержания цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A и TNF- α [Stol K. et al., 2012].

Определение профиля цитокинов в экссудатах у детей с персистирующим экссудативным средним отитом показало, что колониестимулирующий фактор гранулоцитов-макрофагов (GM-CSF) положительно коррелирует с IL-2, а IL-4 отрицательно – с IL-2 [Smirnova M.G. et al., 2005]. Это позволяет предположить, что повышенный уровень IL-4 имеет ингибирующее действие на IL-2. Уровни IL-5 и IL-13 коррелируют с IL-4. Воспалительные клетки коррелируют с цитокинами следующим образом: CD4⁺ Т-клетки с IL-2 и IL-4, макрофаги и нейтрофилы с GM-CSF и эозинофилы с IL-5. Содержание муцина в экссудатах коррелирует с концентрациями IL-4 и IL-13, что предполагает участие этих интерлейкинов в позитивной регуляции метаболизма муцина в слизистой оболочке среднего уха.

Таким образом, цитокиновый и клеточный состав экссудата может отражать этапы воспаления среднего уха. Местное взаимодействие между IL-2 и IL-4, вероятно, играет решающую роль в переходе острого воспаления в хроническое. IL-4, IL-5, IL-13 (цитокины Т-хелперов 2 типа) и GM-CSF (цитокин Th2/Th1) регулируют клеточные и молекулярные процессы хронического воспаления в среднем ухе и опосредуют хроническое течение секреторного среднего отита. IL-2 и группа Th2 цитокинов регулируют хроническое воспаление в среднем ухе [Smirnova M.G. et al., 2005].

IL-1 и TNF- α , по-видимому, играют ключевую роль в инициировании и поддержании воспалительного ответа при различных заболеваниях, в том числе и при хроническом секреторном отите. Вместе с тем, имеется предположение, что воспаление при хроническом секреторном отите является результатом дисбаланса не только в продукции провоспалительных цитокинов, но и их ингибиторов, что способствует проявлению и пролонгации провоспалительного эффекта цитокинов.

Так, в отделяемом из уха при хроническом экссудативном отите у детей ингибитор растворимого рецептора TNF (TNFsolR) выявлен в большей части случаев, чем TNF- α (91% и 83%, соответственно) [Maxwell K. et al., 1997], что указывает на важную роль TNFsolR. При этом наблюдается корреляция уровней обоих цитокинов.

Острота воспаления обусловлена не только уровнем IL-1, но и соотношением этого цитокина и его антагониста IL-1RA. Связываясь с рецептором интерлейкина-1, антагонист препятствует активации внутриклеточного сигнального каскада этого провоспалительного цитокина. Увеличение продукции только IL-1RA при сохраненном содержании IL-1 β в очаге воспаления и на общем уровне опосредует торможение эффектов IL-1 β , позволяет рассматривать этот дисбаланс в качестве предиктора хронизации воспалительных процессов. Последующими исследованиями на экспериментальных моделях острых средних отитов было показано профилактическое и лечебное действие TNFsolR [Jeon E.J. et al., 2001; Park Y.S. et al., 2006], а также IL-1ra [Kerschner J.E. et al., 2000].

При наружных бактериальных отитах данные о цитокиновом спектре в литературе отсутствуют.

1.5. Лабораторная диагностика нарушений свертывающей системы крови

Гипертрофия миндалин ЛГК по-прежнему является самым распространенным заболеванием отоларингологии и основной причиной хирургические вмешательства у детей [Ситников В.П. и соавт., 2008; Rutkow I.M., 1986]. При этом не исключен риск развития операционных кровотечений, которые являются самым частым осложнением при хирургических вмешательствах на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца (ЛГК) [Костерева И.А., 2001; Maniglia A J. et al., 1989; O'Leary S., Vorrath J., 2005]. К факторам, обуславливающим развитие такого рода осложнений, относят аллергический фон больных, нарушения в иммунном статусе и в системе гемостаза [Дюдина О.Ю., 2005; Киричук В.Ф. и соавт., 2004].

В связи с этим к настоящему времени предложены новые технологии оперативных вмешательств, позволяющих уменьшить вероятность операционных кровотечений [Старосветский А.Б., 2005]. Однако, при хирургическом лечении применение аналогичных методов у больных со схожей клинической картиной патологии лимфоэпителиального глоточного кольца и нормальными показателями гемостаза, с участием одного и того же хирурга у одних пациентов заканчиваются успешно, а у других сопровождаются кровотечениями.

Система гемостаза. До настоящего времени понимание механизмов гемостаза было наглядно представлено в виде «каскадной» модели процесса свертывания крови. Она была предложена двумя независимыми группами исследователей в 1964 г. [Davie E.W., Ratnoff O.D., 1964; Macfarlane R.G., Biggs R., 1964] и основывалась на последовательной активации плазменных факторов свертывания (теория ферментативного каскада). В разработанной модели процесс свертывания крови имеет два условных пути: внутренний (повреждение внутри сосудов) и внешний (повреждение тканей), но *in vivo* происходит взаимодействие всех компонентов свертывания. Фибринолиз – процесс лизиса кровяного сгустка считается третьим этапом свертывания крови [Заболотских И.Б. и соавт., 2008].

Примерно в те же годы были описаны основные прокоагулянты и факторы фибринолиза [Баркаган З.С., Момот А.П., 2001].

Однако, теория ферментативного каскада, объясняющая этапность свертывания крови *in vitro*, не давала представления о процессах, происходящих *in vivo*. Позднее были получены данные о том, что внутренний и внешний пути тесно связаны между собой. С учетом этих данных в 2001 г. была предложена «клеточная» модель свертывания крови, претендующая на объективное отражение процессов гемокоагуляции *in vivo* [Hoffman M., Monroe D.M. 3rd., 2001].

Современные тесты исследования системы гемостаза имеют природные ограничения, поскольку они только моделируют *in vitro* процесс свертывания крови, который происходит в живом организме [Дементьева И.И. и соавт., 2013; Дуткевич И. Г. и соавт., 2014]. Моделированием *in vitro* внутреннего пути

свертывания является тест определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ). В этом тесте все необходимые компоненты инициации внутреннего пути свертывания вносятся извне.

Во внешнем пути свертывания ключевое место отводится тканевому фактору – гликопротеину, связанному с мембранами и присутствующему во многих тканях. Внешний путь свертывания принято моделировать *in vitro* тестом протромбинового времени, когда к исследуемой цитратной плазме, бедной тромбоцитами, добавляют так называемый тромбопластин, представляющий собой солевой экстракт тканей, содержащий тканевый фактор и фосфолипиды клеточных мембран.

Лабораторные коагулометрические тесты, используемые в оториноларингологии. На практике используются следующие коагулометрические тесты, которые, как правило, выполняются при первичном предоперационном обследовании пациентов.

Содержание тромбоцитов в периферической крови характеризует сосудисто-тромбоцитарный гемостаз.

Время свертывания крови (ВСК) и длительность капиллярного кровотечения (ДК) характеризуют эластичность кровеносных сосудов и их способность к сокращению при травме, а также состояние тромбоцитарной системы (способность к адгезии и агрегации). Практическое значение имеет увеличение времени свертывания крови и длительности кровотечения. Оно отражает нарушение первичного гемостаза вследствие тромбоцитопений, тромбоцитопатий, нарушения сосудистой стенки или сочетания этих факторов.

Протромбиновое время (ПВ) позволяет оценивать внешний каскад свертывания плазмы. Для оценки риска операционных кровотечений имеет значение удлинение протромбинового времени, которое происходит в результате дефицита или аномалии факторов протромбинового комплекса (VII, X, V, II), при болезнях печени и синдроме ДВС.

Тромбиновое время (ТВ) – его укорочение происходит в результате гиперфибриногенемии ($\geq 6,0$ г/л), при начальной (гиперкоагуляционной) фазе

ДВС-синдрома. Увеличение тромбинового времени происходит при гипофибриногенемии ($< 1,0$ г/л), в случаях развития острого ДВС-синдрома

Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АЧТВ/АПТВ). АЧТВ используется для оценки внутреннего каскада свертывания плазмы и является более значимым тестом для первичного выявления патологии, чем протромбиновое время [Долгов В.В., Свирин П.В., 2005]. Укорочение АЧТВ происходит при активации внутреннего механизма свертывания при тромбозах, тромбоэмболиях, при ДВС-синдроме.

Удлиннение АЧТВ происходит при нарушении функции печени, дефиците факторов внутреннего пути свертывания на фоне нормальных результатов протромбинового теста, при дефиците факторов II, V, X в случае сопутствующей гипокоагуляции в протромбиновом тесте, дефиците фактора Виллебранда, ДВС-синдроме – коагулопатии потребления.

Фибриноген – снижение его уровня происходит при остром ДВС-синдроме, а повышение уровня фибриногена – при инфекционных, воспалительных и аутоиммунных процессах, подостром и хроническом ДВС-синдроме [Долгов В.В., Свирин П.В., 2005].

Оценка тромбоцитов в тесте адренилин-индуцированной агрегации тромбоцитов. Исследование проводят на агрегометре с использованием плазмы с высоким содержанием тромбоцитов (0,2 клеток/мкл) и индукторов агрегации.

Д-димер представляет собой конечный продукт деградации фибрина и является показателем гиперкоагуляции, которая реализуется в венозную тромбоэмболию. Д-димер является маркером тромбообразования и фибринолиза и позволяет судить об интенсивности процессов образования и лизиса фибриновых сгустков. Увеличение содержания Д-димера наблюдается при активации свертывания крови, в том числе при синдроме ДВС, массивных повреждениях тканей или хирургических операциях [Witt I. et al., 1995].

Перечисленные гемостазиологические тесты выполняются в лабораториях стационаров, имеющих хирургические и кардиологические отделения, и достоверно указывают на нарушения системы гемостаза [Козлов А.А. и соавт.,

2013]. Однако удовлетворительные результаты этих исследований не являются гарантией отсутствия операционных кровотечений у детей при хирургических вмешательствах на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца.

П.А. Паневин (2006) указывает, что кровотечения при тонзиллэктомии являются следствием нераспознанных нарушений в системе гемостаза. Результатов исследования причин данного феномена в литературе не обнаружено. Это является основанием для продолжения поиска новых информативных показателей гемостаза, которые позволят прогнозировать появление интраоперационных кровотечений у детей.

Плазменный фибронектин. Название этого белка характеризует его способность связывать фибриллярные белки, в том числе фибрин (от лат. *fibra* – волокно, *nectere* – связывать). Фибронектин имеет две формы – плазменную и клеточную, различающиеся структурой молекул [Ni H., Freedman J., 2003; Savage B. et al., 1998].

Клеточный фибронектин входит в состав клеточных структур. Плазменный фибронектин продуцируется в печени и поступает в кровь [Zerlauth G., Wolf G., 1984]. Данный белок может образовывать нити (фибриллы), которые связываются с клетками и тромбоцитами. Фибриллы фибронектина передают нитям фибрина реакцию тромбоцитарных белков, что опосредует ретракцию сгустка [McKeown-Longo P.J., Mosher D.F., 1983].

На молекуле фибронектина имеются участки связывания фибрина, коллагена и интегринов [Mosher D.F., Schad P.E., 1979]. Плазменный фибронектин является важным участником остановки кровотечения [Reheman A. et al., 2009]. Фибронектин плазмы регулирует процессы свертывания и противосвертывания.

Повышение содержания фибронектина в крови наблюдается при повреждении сосудов, при воспалении, а также при патологии сердечно-сосудистой системы [Peters J.H. et al., 2003; To W.S., Midwood K.S., 2011]. Недостаток фибронектина не приводит к кровотечениям, но может опосредовать операционное кровотечение.

Публикации о значении плазменного фибронектина в развитии

операционных кровотечений у детей при хирургических вмешательствах на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца в литературе отсутствуют.

1.6. Инфекции, актуальные при воспалительных заболеваниях ЛОР-органов

Инфекционная патология человека в своей структуре претерпевает в последнее время существенные изменения, связанные с увеличением доли так называемых латентных инфекций. Латентные инфекции имеют этиологическое значение в формировании лимфаденопатий и воспалительной патологии верхних дыхательных путей [Хулугурова Л.Н. и соавт., 2011; Белан Э.Б. и соавт., 2015; Bielicka A. et al., 2016].

Значимость персистенции герпесвирусов (ВЭБ и цитомегаловируса) в патогенезе воспалительных заболеваний ЛОР-органов получает все большее подтверждение [Арефьева Н.А., 2012; Красницкая А.С., Полятика А.Н., 2013; Маркелова Е.В. и соавт., 2013; Савенко И.В., Комарова Е.А., 2007; Савенко И.В. и соавт., 2008; Симованьян Э.Н. и соавт., 2006; Cohen J.I., 2000; Hoover S.E. et al., 2008]. Имеются данные, свидетельствующие, что ВЭБ и ЦМВ являются этиологическим фактором патологии лимфоэпителиального глоточного кольца [Маркелова Е.В. и соавт., 2013]. В работе М.В. Дроздовой (2010) показано, что хроническая персистенция герпесвирусных инфекций приводит к лимфаденопатиям.

Помимо герпетической инфекции, приобретают актуальность *Muc. pneumoniae* и *Chl. pneumoniae*, являющиеся этиологическими факторами детских инфекций ВДП [Горбатенко Н.Г., Геращенко В.Г., 2016; Горбич О.А., 2016]. Эти патогены длительно внутриклеточно персистируют в эпителии и лимфоидной ткани слизистой оболочки глотки и являются причиной ряда заболеваний, в том числе отита [Барденикова С.И. и соавт., 2012; Преображенская Ю.С., Дроздова М.В., 2014; Рябчук Ф.Н. и соавт., 2009; Щербик Н.В. и соавт., 2011]. Выявлена корреляция между вегетированием *Chl. pneumoniae* в лимфоидной ткани глоточной миндалины и степенью ее гипертрофии [Bielicka A. et al., 2016].

ВЭБ-инфекция. Ее возбудитель – вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) относится к

вирусам 4 типа герпеса человека, содержащим ДНК. Основным путем передачи ВЭБ считают воздушно-капельный, а фактором передачи – контаминированную вирусом слюну [Лобзин Ю.В., 2008]. Не исключено заражение через продукты питания, содержащие вирус, а также бытовым путем через рукопожатия и предметы обихода [Павленко О.А., Щербак В.А., 2009]. Имеются сообщения о гемотрансфузионном и половом путях передачи [Hudnall S.D. et al., 2008; Leigh R., Nyirjesy P., 2009]. Поэтому неудивительно, что ВЭБ имеет глобальное распространение в мире, в том числе и в России [Гончарова Е.В. и соавт., 2015].

Вскоре после открытия вируса Эпштейна – Барр в 1964 г. была доказана его роль в этиологии инфекционного мононуклеоза, но чаще ВЭБ-инфекция имеет бессимптомные и стертые формы [Лобзин Ю.В., 2008]. При первичном инфицировании ВЭБ, которое, как правило, происходит в детском возрасте, инфекционный процесс может протекать в острой, бессимптомной или стертой форме. В результате первичной ВЭБ-инфекции возможно несколько вариантов исхода: выздоровление, латентная инфекция (бессимптомное вирусоносительство) и хроническая рецидивирующая инфекция с клинической симптоматикой [Калинина Н.М. и соавт., 2010; Исаков В.А. и соавт., 2006; Straus S.E. et al., 1993]. Описано также медленное (прогредиентное) течение ВЭБ-инфекции [Ершов Ф.И. и соавт., 2008]. При этом во всех случаях ВЭБ характеризуется тропизмом к эпителиальным клеткам носоглотки и лимфоцитам миндалин ЛГК [Львов Н.Д., 2012; Niedobitek G. et al., 2000].

Геном вируса сохраняется пожизненно в В-лимфоцитах у большинства больных, перенесших первичную инфекцию ВЭБ [Gulley M.L., Tang W., 2008; Young L.S. et al., 2004]. Помимо В-лимфоцитов ВЭБ поражает другие клетки крови, а также дендритные клетки лимфоидных фолликулов, клетки эпителия слизистой верхних дыхательных путей, что представляет особое значение для патологии лимфоэпителиального глоточного кольца и среднего уха [Шилова О.Ю., 2007; Kimura H. et al., 2009; Ryan J.L. et al., 2004; Tugizov S. et al., 2007]. В работе Ф.А. Хафизовой (2012) выявлено присутствие ВЭБ в В-лимфоцитах фолликулов и в клетках эпителия небных миндалин у больных хроническим

тонзиллитом. Данный факт указывает на особую роль небных миндалин как резервуара латентной ВЭБ-инфекции, а также как источника ее активации.

Вместе с тем, имеется мнение, что такое обилие клеток-мишеней обусловлено их собственной патологической ситуацией, так как в нормальных тканях присутствие вируса ограничивается только В-лимфоцитами [Gulley M.L., Tang W., 2008; Ryan J.L. et al., 2004].

Персистенция ВЭБ-инфекции сопровождается снижением специфических и неспецифических факторов иммунной реактивности организма и формированием первичного иммунодефицита [Барычева Л.Ю. и соавт., 2012; Любошенко Т.М., 2014; Любошенко Т.М., Куликова О.М., 2014; Малашенкова И. К. и соавт., 2003; Cohen J.I., 2015; Lee S.H. et al., 2009; Nguyen K.B. et al., 2002]. Во время активной репликации вирус индуцирует продукцию IL-10-подобного белка, который подавляет Т-клеточный иммунитет, функцию цитотоксических лимфоцитов, макрофагов, нарушает все этапы функционирования естественных киллеров – важнейших систем противовирусной защиты. Кроме того, ВЭБ обладает высокой генетической вариабельностью, что позволяет ему избегать связывания специфическими иммуноглобулинами, которые были образованы против вируса до его мутаций и клеток иммунной системы организма [Ратникова Л.И., 2015; Holmes R.D., Sokol R.J., 2002].

Лабораторная диагностика острой ВЭБ-инфекции (инфекционного мононуклеоза) до настоящего времени осуществляется по характерной картине лейкоцитарной формулы, лейкоцитозу и увеличению СОЭ. Однако наличие атипичных мононуклеаров в периферической крови обнаруживается менее чем у половины пациентов (44,4%): в 53,1% случаев при типичной и в 18,5% случаев при атипичной клинике [Гилева Р.А. и соавт., 2014]. У остальных больных диагноз инфекционного мононуклеоза может быть верифицирован с помощью экспресс-тестов, которые позволяют выявлять неспецифические антитела (реакция Пауля – Буннеля), и иммуноферментного анализа, позволяющего определять в крови специфические антитела к белкам ВЭБ [Долгих Т.И. и соавт., 2013].

В процессе репликации ВЭБ образуется более 70 специфичных белков, но значение для иммунологической диагностики имеют только три из них: ранний антиген (EA), ядерный антиген (NA) и капсидный антиген (VCA) [Didier J. et al., 1978]. Так как выработка антител к белкам данного вируса детерминирована во времени, то по присутствию определенных антител можно судить о стадии инфекции, о реактивации, персистенции и ее давности (ранняя и поздняя паст-инфекция) или первичном инфицировании [Заблоцкая С.Г. и соавт., 2002; Малашенкова И. К. и соавт., 2003].

Специфические антитела класса IgM появляются в крови больных в острой фазе заболевания или в период обострения и через четыре – шесть недель, как правило, элиминируются. Специфические антитела класса IgG к раннему антигену (EA) также появляются в острой фазе, являются маркерами активной репликации вируса, и на этапе реконвалесценции их уровень снижается в течение 3 – 6 месяцев. Специфические антитела класса IgG к капсидному антигену (VCA) определяются у больных в остром периоде с максимумом ко 2 – 4-й неделе заболевания, затем их содержание снижается до порогового уровня, который сохраняется длительное время. Специфические антитела класса IgG к ядерному антигену (EBNA) появляются в крови спустя 2 – 4 месяца после острой фазы первичной инфекции, а их продукция в организме сохраняется в течение всей жизни [Котлова В.Б., 2013; Тюняева Н.О., Сафронова Л.В., 2014].

Клиническая картина реактивации ВЭБ-инфекции сходна с таковой при первичном инфицировании, но при исследовании в крови пациентов специфических антител к белкам ВЭБ определяются антитела класса IgG к капсидному (VCA), ядерному (NA), раннему (EA) антигенам, свидетельствующие о предыдущем инфицировании ВЭБ [Didier J. et al., 1978].

На сегодняшний день имеются веские доказательства, что тропизм ВЭБ к эпителиальным и лимфоидным структурам носоглотки опосредует формирование лимфопролиферативного синдрома в области носоглотки как острого, так и хронического [Дроздова М.В., Тырнова Е.В., 2009].

ЦМВ-инфекция. Причиной лимфаденопатии, помимо инфекции вируса Эпштейна – Барр, может быть и цитомегаловирусная инфекция [Долгих Т.И. и соавт., 2008; Arvin A. et al., 2007]. Это обусловлено тропностью ЦМВ к лимфоидной ткани. Вместе с тем, при ВЭБ-инфекции лимфопролиферативная реакция выражена в большей степени и чаще, а при цитомегаловирусной – в меньшей степени и реже [Полукчи А.К. и соавт., 2009; Nishikawa J. et al., 2011].

Цитомегаловирус (ЦМВ) – ДНК-содержащий вирус семейства герпесвирусов, который относится к 5-й группе герпесвирусов человека. Обнаружение ЦМВ в разнообразных биологических жидкостях человека (молоко кормящих матерей, кровь, моча, слюна и пр.) свидетельствует о широком распространении вируса в организме [Самсыгина Г.А., 2016; Сотников И.А. и соавт., 2015].

Цитомегаловирусная инфекция детского возраста характеризуется разнообразной клинической картиной. У пациентов с ЦМВ-инфекцией, как и при ВЭБ-инфекции, отсутствуют патогномоничные симптомы. Исключение представляет тонзиллит, который чаще встречается при инфекции ЦМВ [Любошенко Т.М., 2014]. В большинстве случаев у детей и взрослых клиническая картина первичной инфекции имеет латентную форму. Только на фоне иммунодефицита различной этиологии первичная ЦМВ-инфекция приобретает яркую клиническую картину с возможными генерализованными формами или тяжелыми локализованными формами заболевания.

Многообразие клинических проявлений (гепатоспленомегалия, атипичный лимфоцитоз, ринит, лихорадка и др.) связано с тем, что цитомегаловирус реплицируется почти во всех клетках организма [Ершов Ф.И., 2002; Щербак В.А. и соавт., 2013]. В условиях некоторых дефектов иммунитета иммунокомпетентные клетки крови не уничтожают ЦМВ, напротив, в них начинается репликация вируса [Кочкина С.С., Ситникова Е.П., 2016; Боковой А.Г., 2008; Каражас Н.В. и соавт., 2012]

ЦМВ способен длительно и латентно персистировать в органах, богатых лимфоидной тканью, будучи защищенным от воздействия антител и интерферона.

Персистенция ЦМВ в лимфоидных органах вызывает гиперплазию лимфоидной ткани, сопровождающуюся патологией глоточной и небных миндалин.

Роль цитомегаловирусной инфекции в патогенезе экссудативного среднего отита у детей, который является осложнением хронической патологии лимфоэпителиального глоточного кольца, изучена недостаточно.

Инфекция *Mycoplasma pneumoniae*. Род *Mycoplasma*, относящийся к классу бактерий *Mollicutes*, является уникальной формой жизни, характеризующийся небольшим геномом и неспособностью производить клеточную стенку ни при каких обстоятельствах. *Mycoplasma pneumoniae* является наиболее распространенным из 6 патогенных видов, инфицирующих людей [Wilson M.H., Collier A.M., 1976]. Геном *Mycoplasma pneumoniae* относительно мал (около 816 тысяч пар оснований), что обуславливает его ограниченные биосинтетические возможности и медленную скорость репликации [Himmelreich R. et al., 1996].

Mycoplasma pneumoniae вместо плотной клеточной стенки имеет мембрану, что обуславливает резистентность этой бактерии к антибиотикам, блокирующим создание клеточной стенки, и подвижную терминальную структуру, обеспечивающую адсорбцию бактерии к наружным структурам клеток-мишеней [Chaudhry R. et al., 2016]. Иммунные клеточные реакции на микоплазму пневмонии в очагах воспаления реализуются по типу гиперчувствительности замедленного типа, что связывают с иммуносупрессорным воздействием микоплазмы, а также индукцией выработки аутоантител против клеток тканей и лимфоцитов [Лисин В.В., Коренько И.Е., 1988].

Респираторные заболевания, вызванные *Mycoplasma pneumoniae*, в 25% случаев осложняются вовлечением различных систем, органов и тканей организма, таких как нервная система, сердечно-сосудистая система, кости и суставы, почки, кожа и слизистые оболочки, кровь. Внелегочные проявления инфекции *Mycoplasma pneumoniae* могут иметь место даже при отсутствии пневмонии [Talkington D.F. et al., 2001; Murray H.W. et al., 1975]. *Mycoplasma pneumoniae* способна к длительной персистенции [Прозоровский С.В. и соавт., 1992, 1995; Waites K.B. et al., 2008].

Вместе с тем остается малоизученной патогенетическая роль *Mycoplasma pneumoniae* в формировании экссудативного среднего отита у детей.

Инфекция *Chlamydophila pneumoniae*. В 1989 году штамм *Chlamydia TWAR* был признан в качестве третьего вида рода *Chlamydia* и был назван *Chlamydia pneumoniae* [Grayston J.T. et al. 1989]. В 1999 году было предложено новое название бактерии *Chlamydophila pneumoniae* [Everett K.D. et al. 1999]. Предложение не получило общего признания, и оба названия используются в настоящее время разными авторами. Этот патоген является облигатной внутриклеточной бактерией и существует в двух формах: элементарных и ретикулярных телец [Blasi F. et al., 2009; Kern J.M. et al., 2009]. Элементарные тельца – метаболически малоактивные формы, адаптированные к внеклеточному существованию. Обладают инфекционными свойствами, способны проникать в клетку-мишень, где и происходит цикл развития хламидофил. Ретикулярные тельца – метаболически активная, репродуктивная форма внутриклеточного существования хламидофил. Хламидофилы размножаются в мембраносвязанных вакуолях эукариотических клеток-хозяев. Они не способны генерировать АТФ и, следовательно, энергетически зависят от клетки-хозяина. Более того, они не способны к биосинтезу нуклеотидов *de novo*, и также зависят от нуклеотидных запасов клетки-хозяина [Blasi F. et al., 2009].

Chlamydophila pneumoniae имеет специфический тропизм и проявляет цитотоксическую активность по отношению к клеткам эпителия дыхательных путей, в которых она размножается и разрушает инфицированные клетки путем лизиса [Choroszy-Król I. et al., 2014]. Хламидофила пневмонии является причиной внебольничной пневмонии, фарингита, бронхита, синусита, обострений хронического бронхита и бронхиальной астмы. Источник инфекции – больные и бациллоносители [Бочкарев Е.Г., 2000; Кухтинова Н.В. и соавт., 2005; Blasi F. et al., 2009]. Путь передачи инфекции – воздушно-капельный. Не исключено заражение контактным, анте- и интранатальным путями [Pawlikowska M., Deptuła W., 2007].

Перенесенная инфекция не сопровождается формированием пожизненного

иммунитета. Инфекционный процесс часто переходит в хроническое течение, бессимптомную клиническую форму или форму малых проявлений. Хронический хламидофильный воспалительный процесс связывается многими авторами с патогенезом ряда заболеваний [Jama-Kmiecik A. et al., 2015]. Однако роль хламидофильной инфекции в патогенезе экссудативного среднего отита пока недостаточно изучена.

В настоящее время остается неисследованной роль ВЭБ и ЦМВ у детей в формировании экссудативного среднего отита и в возникновении операционных кровотечений при хирургических вмешательствах на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца.

Подводя итоги изучения специальной литературы по теме настоящей работы можно заключить следующее. Хронический тонзиллит у детей и взрослых и аденоидит у детей являются наиболее распространенными видами заболеваний ЛОР-органов. Миндалины ЛГК являются периферическими органами иммунной системы, что заставляет отдавать предпочтение консервативным методам лечения. Вместе с тем, запущенные случаи аденоидита могут осложняться средним отитом, который у значительной части детей имеет тенденцию к затяжному течению, хронизации воспалительных процессов, рецидивированию и инвалидизации больных.

Хирургические методы продолжают занимать существенное место в лечении больных с патологией лимфоэпителиального глоточного кольца. Однако отсутствуют диагностические подходы с применением медицинских лабораторных методов, которые позволяли бы определять наиболее важные этиологические и патогенетические инфекционные факторы и своевременно выявлять декомпенсацию миндалин. В настоящее время этиологическая диагностика сводится к выделению множества видов бактерий, вирусов и грибов, вегетирующих на слизистой оболочке носоглотки и в тканях миндалин, что лишено практического смысла и не является основанием для применения антимикробной терапии.

Определение декомпенсации небных миндалин по клиническим признакам является несовершенным. Применение лабораторного исследования иммунологической функции небных миндалин по методу Е.Л. Попова и Н.П. Пущиной (1982, 1987) имеет большее значение для оценки динамики показателей при обострении хронического тонзиллита или в результате консервативной терапии, чем для первичной диагностики, поскольку у части людей без патологии небных миндалин, также, как и у больных, выявляются повышенные и пониженные уровни иммунологической активности небных миндалин.

При хроническом тонзиллите и аденоидите лабораторные исследования, помимо микробиологических, включают в настоящее время только клинические анализы крови и мочи и иммунологические анализы крови на СРБ, ревмофактор и антистрептолизин О. Эти лабораторные исследования важны для оценки системной реакции организма при обострении хронического воспаления и для диагностики некоторой части тонзиллогенной патологии внутренних органов, а также, казалось бы, и для выявления ревматизма, но уровень ревмофактора в крови повышается только в течение года после появления клинических признаков ревматоидного артрита.

Важное значение представляет в настоящее время метаболомный анализ выдыхаемого воздуха. Анатомическое расположение небных миндалин, а также воспалительный характер и инфекционная этиология тонзиллита не могут не влиять на спектр газообразных веществ в выдыхаемом воздухе. Однако эта технология при обследовании больных хроническим тонзиллитом ранее не применялась.

Немаловажной является и проблема кровотечений во время хирургических вмешательств на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца. В первую очередь, это касается пациентов детского возраста, имеющих значительно меньший объем циркулирующей крови, чем у взрослых. Однако воздействие операционной травмы на систему гемостаза детей в условиях данной патологии не изучено. Удовлетворительные результаты лабораторных исследований

гемостаза, входящих в настоящее время в предоперационное обследование, не дают гарантии отсутствия операционных кровотечений.

Уже имеются литературные данные о роли скрытых инфекций, особенно лимфотропных вирусов цитомегалии и Эпштейна – Барр, в этиологии и патогенезе хронического тонзиллита и аденоидита. Однако не изучено влияние латентных инфекций на тяжесть клинического течения этих заболеваний и появление их осложнений, а также на развитие операционных кровотечений при хирургических вмешательствах на миндалинах.

Холестеатома продолжает оставаться серьезной проблемой в патологии среднего уха. Вместе с тем, применение существующих диагностических методов сопровождается в ряде случаев ложноотрицательными и ложноположительными результатами. Показана диагностическая эффективность новой медицинской лабораторной технологии, которой является исследование морфологических характеристик твердой фазы биологических жидкостей при различной патологии, в том числе и при хронических гнойных средних отитах у детей с помощью исследования слюны. Однако применение этой технологии у взрослых больных и исследование непосредственно отделяемого из барабанной полости не проводились.

В лечении бактериальных наружных диффузных отитов широко применяют антибактериальные препараты с целью подавления микрофлоры, почти не принимая во внимание нарушения системы иммунитета и не оценивая необходимость их коррекции. Происходит это отчасти за счет отсутствия сведений о состоянии системы иммунитета при данной патологии. В частности, таких важных факторов неспецифической резистентности организма, как антимикробных белков и пептидов.

Таким образом, ряд патофизиологических аспектов воспалительных заболеваний ЛОР-органов либо не изучен, либо требует дополнительных углубленных исследований.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика групп больных и групп контроля, включенных в исследование

Диссертационное исследование выполнено в лабораторно-диагностическом отделе ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» Минздрава России (директор – академик РАН, д.м.н., проф. Янов Ю.К.) в период с 2003 г. по 2015 г.

Объектами исследования выбраны больные с заболеваниями ЛОР-органов: хроническим тонзиллитом, хроническим гнойным средним отитом с эптитимпанитом и холестеатомой, наружным бактериальным диффузным отитом, экссудативным средним отитом на фоне хронического лимфопролиферативного синдрома, хроническим аденоидитом. При разработке протоколов исследования были учтены положения Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правил клинической практики в Российской Федерации», утвержденных Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 226. Протоколы исследования одобрены этическим комитетом СПб НИИ ЛОР.

Всего в исследования включено 687 больных (290 взрослых, 397 детей) и 97 человек (87 взрослых, 10 детей) контрольных групп. Настоящая научная работа содержит пять отдельных исследований, которые включают сведения, полученные в ходе клинического обследования больных и изучения наиболее информативных патофизиологических показателей.

Исследование, посвященное метаболомному анализу выдыхаемого воздуха у больных хроническим тонзиллитом, выполнено в дизайне сравнительного открытого исследования с использованием клинических, лабораторных и статистических методов. Проведено клиническое и лабораторное обследование 105 пациентов обоего пола – 39 мужчин (37%) и 66 женщин (63%) в возрасте от 16 до 52 лет. Отбор больных проводился из числа пациентов, обратившихся в поликлиническое отделение и в клинику реконструктивной и пластической

хирургии верхних дыхательных путей СПб НИИ ЛОР (руководитель – д.м.н. Наumenко Н.Н.) в период с 2004 г. по 2007 г. Группу контроля численностью 27 человек (17 мужчин и 10 женщин) составили сотрудники института и пациенты отделения голосовых и речевых расстройств, у которых отсутствовали воспалительные заболевания ЛОР-органов, их возрастной диапазон составил от 20 до 45 лет.

Преследуя цель получения репрезентативных данных метаболомного анализа выдыхаемого воздуха из групп обследуемых были исключены пациенты с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, верхних и нижних дыхательных путей, с онкологическими заболеваниями, воспалительными заболеваниями полости рта. Кроме того, применялись следующие ограничения: отмена употребления ароматизированных сладостей (леденцы, жевательная резинка) за 3 часа, курения табака за 4 часа и употребления спиртных напитков за 2-е суток до исследования).

Клиническое обследование, лечение больных, взятие биологического материала для лабораторных исследований и метаболомный анализ выдыхаемого воздуха выполняла врач-оториноларинголог Щербакова Н.В.

Исследование, посвященное изучению липидного обмена и структур твердой фазы регионарных внешних секретов при хронических гнойных средних отитах, выполнено в дизайне сравнительного открытого исследования с использованием клинических, лабораторных и статистических методов. Проведено клинико-лабораторное обследование 85 пациентов. В группу были включены больные обоего пола – 39 мужчин (46%) и 46 женщин (54%), их возраст составил диапазон от 16 до 62 лет. В контрольную группу вошли 28 добровольцев обоего пола – 17 (61%) мужчин и 11 (39%) женщин с возрастным диапазоном от 16 до 35 лет, отобранных из числа пациентов отделения голосовых и речевых расстройств. Исследование выполнено на базе клиники реставрационной хирургии уха СПб НИИ ЛОР (руководитель – профессор Аникин И.А.) в период с 2003 г. по 2006 г. Клиническое обследование, лечение больных и взятие биологического материала для лабораторных исследований

выполнял врач-оториноларинголог Азнаурян А.М.

Исследование, посвященное изучению показателей системы иммунитета при бактериальном наружном диффузном отите (БНДО), выполнено в дизайне открытого проспективного когортного исследования. Проведено клинко-лабораторное обследование 132 человек. Из них 100 пациентов имели верифицированный диагноз «бактериальный наружный диффузный отит» – 55 мужчин (55%) и 45 женщин (45%) в возрасте от 18 до 65 лет. 32 добровольца, не имеющие воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей, составили контрольную группу, из них – 21 (66%) мужчина и 11 (34%) женщин, их возрастной диапазон составил от 18 до 52 лет. Исследование выполнено на базе ЛОР-отделения и бактериологической лаборатории СПб ГБУЗ «Городская Покровская больница» и кафедры оториноларингологии ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России (заведующий кафедрой – доктор медицинских наук, профессор Артюшкин С.А.) в период с 2008 г. по 2011 г. Клиническое обследование, лечение больных, взятие биологического материала для лабораторных исследований и обработку полученных данных выполнял врач-оториноларинголог ассистент кафедры Кустов М.О.

Исследование, посвященное изучению латентных инфекций у детей при экссудативном среднем отите на фоне хронической патологии лимфоэпителиального глоточного кольца, выполнено в дизайне сравнительного открытого исследования с использованием клинических, лабораторных и статистических методов. Проведено клиническое и лабораторное обследование 176 детей с верифицированным диагнозом «хронический лимфопролиферативный синдром, осложненный экссудативным средним отитом», обоего пола – 106 мальчиков (60%) и 70 девочек (40%), их возраст составил от 2 до 7 лет. Исследование выполнено на базе детского хирургического отделения СПб НИИ ЛОР (заведующая отделением – д.м.н. Дроздова М.В.) в период с 2011 г. по 2013 г. Клиническое обследование, лечение больных и взятие биологического материала для лабораторных исследований выполняла врач-оториноларинголог

Преображенская Ю.С.

Исследование, посвященное изучению системы гемостаза у детей, имеющих хроническую патологию ЛГК, на этапах оперативного лечения, выполнено в дизайне сравнительного открытого исследования с использованием клинических, лабораторных и статистических методов. Проведено обследование (клиническое и лабораторное) 155 больных детей, обоего пола – 92 мальчика (59,4%) и 63 девочки (40,6%), их возраст составил от 2 до 14 лет. В контрольную группу вошли 10 детей – 4 (40%) мальчика и 6 (60%) девочек, их возрастной диапазон составил от 3 до 14 лет, из числа пациентов отделения голосовых и речевых расстройств, у которых отсутствовали хронические воспалительные заболевания ЛОР-органов. Исследование выполнено на базе детского хирургического отделения СПб НИИ ЛОР (заведующая отделением – д.м.н. Дроздова М.В.) в период с 2013 г. по 2015 г. Клиническое обследование, лечение больных и взятие биологического материала для лабораторных исследований выполнял врач-оториноларинголог Очилов Р.Т.

Сводные данные о клинических лабораторных исследованиях, выполненных в настоящей работе в целом, представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Сводные данные о научных исследованиях, выполненных в диссертационной работе

Разделы диссертации, виды исследований	Количество исследований	
	больные	группы контроля
Глава 3		
Клинический анализ крови	56	27
Общий анализ мочи	56	27
С-реактивный белок	105	27
Антистрептолизин-О	105	27
Ревмофактор	105	27
Исследование иммунологической функции небных миндалин	87	26

Продолжение таблицы 2.1.

Исследование бактериальной микрофлоры небных миндалин	126	27
Метаболомный анализ выдыхаемого воздуха с помощью технологии «электронный нос»	210	27
Всего исследований в главе 3	850	215
Глава 4		
Биохимический анализ липидного спектра крови	47	0
Определение общего холестерина в отделяемом из слуховой трубы	51	14
Определение триглицеридов в отделяемом из слуховой трубы	51	14
Определение общего холестерина в слюне	41	16
Определение триглицеридов в слюне	41	16
Морфологический анализ картины твердой фазы слюны методом клиновидной дегидратации	85	28
Морфологический анализ картины твердой фазы слюны методом краевой дегидратации	85	28
Морфологический анализ картины твердой фазы отделяемого из устья слуховой трубы (метод клиновидной дегидратации)	85	28
Морфологический анализ картины твердой фазы отделяемого из устья слуховой трубы (метод краевой дегидратации)	85	28
Гистологическое исследование операционного материала	85	0
Всего исследований в главе 4	656	172
Глава 5		
Микробиологические исследования	200	0
Определение лекарственной чувствительности патогенных бактерий	44	0
Клинические анализы крови	300	32
Определение фагоцитарной активности нейтрофилов крови	200	32
Определение С-реактивного белка	300	32
Определение белка, связывающего липополисахарид (LBP) в венозной крови	200	32
Определение белка, связывающего липополисахарид (LBP) в капиллярной крови	200	0
Определение α -дефенсинов (HNP 1-3) в плазме венозной крови	200	32
Определение β -дефенсинов (hBD-2) в плазме венозной крови	200	32
Определение кателицидина LL-37 в плазме венозной крови	200	32
Определение кателицидина LL-37 в плазме капиллярной крови	200	32
Определение кателицидина BPI-белка в плазме венозной крови	200	32

Продолжение таблицы 2.1.

Определение IL-1 β в венозной крови	200	32
Определение IL-6 в венозной крови	200	32
Определение TNF- α в венозной крови	200	32
Содержание общих иммуноглобулинов в венозной крови IgA, IgM и IgG	600	96
Содержание общих иммуноглобулинов E в венозной крови	200	32
Всего исследований в главе 5	3844	512
Глава 6		
Специфические антитела к вирусу Эпштейна – Барр (IgG к NA, IgG к EA, IgM к VCA)	924	0
Специфические антитела IgM и IgG к ЦМВ	616	0
Специфические антитела IgM, IgA и IgG к <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	924	0
Специфические антитела к IgM, IgA и IgG <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	924	0
Клинический анализ крови	176	0
Содержание общих иммуноглобулинов E в крови	176	0
Микроскопия окрашенного мазка отделяемого из полости носа 90 больных	176	0
Цитологическое исследование экссудата полости среднего уха	131	0
Определение цитокинов IL-1 β , IL-1 α и IL-6 в смывах из среднего уха	240	0
Молекулярно-генетический анализ ДНК ВЭБ в крови и слюне	264	0
Молекулярно-генетический анализ ДНК ЦМВ в крови и слюне	264	0
Молекулярно-генетический анализ ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i> в крови и слюне	264	0
Молекулярно-генетический анализ ДНК <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> в крови и слюне	264	0
Всего исследований в главе 6	5343	0
Глава 7		
Специфические антитела к вирусу Эпштейна – Барр (IgG к NA, IgG к EA, IgM к VCA)	580	30
Специфические антитела IgM и IgG к ЦМВ	290	20
Антистрептолизин-О	145	10
Содержание тромбоцитов в крови	166	0
Определение адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов	311	0
АЧТВ	290	0

Продолжение таблицы 2.1.

% протромбина по Квику	290	0
Содержание фибриногена в крови	290	0
Содержание фибронектина в крови	290	10
Всего исследований в главе 7	2652	70
ИТОГО исследований в диссертации	14 314	

2.2. Методы получения биологического материала для лабораторных исследований

Смывы из крипт небных миндалин

Получение смывов из лакун небных миндалин осуществлялось по методу Е.Л. Попова и Н.П. Пущиной (1987) при фарингоскопическом осмотре пациента с помощью специального устройства (рисунок 2.1).

В корпусе устройства зафиксирован пластиковый шприц однократного применения. Посредством толкателя, обладающего автоматическим возвратным ходом, из шприца физиологический раствор поступает через длинную иглу в промываемую полость. Конец иглы во избежание ранений затуплен и имеет дискообразное утолщение-ограничитель, который позволяет при промывании перекрывать входное отверстие полости.

Введение иглы с ограничителем в устье лакуны выполняли под визуальным контролем. Введение в крипту миндалины стерильного физиологического раствора объемом 100 мкл проводили под давлением до упора поршня. После введения жидкости поршень шприца под действием пружины принимал исходное положение. При этом шприц засасывал взвесь содержимого полости крипты. Манипуляцию повторяли 3 раза.



Рисунок 2.1 – Приспособление для получения смывов

Смывы экссудата барабанной полости для морфологического анализа структур биологических жидкостей (методы клиновидной и краевой дегидратации) получены с помощью оригинального способа (патент на изобретение RUS 2315302 14.03.2006), применение которого позволяет получать отделяемое из слуховой трубы и полости среднего уха для лабораторных исследований. Получение материала достигалось многократным введением и обратным отбором стерильного физиологического раствора в полость среднего уха через слуховую трубу. Манипуляцию проводили с использованием приспособления, предложенного учеными НИИ ЛОР Е.Л. Поповым и П.Н. Пущиной (1987) для получения смывов из лакун небных миндалин (рисунок 2.1).

Для непосредственного получения смывов из барабанной полости был использован инсулиновый шприц, который приближали к барабанной перепонке через наружный слуховой проход. Шприцем в полость среднего уха вводили стерильный физиологический раствор в объеме 0,1 мл, далее введенная жидкость аспирировалась обратно в шприц.

Получение образцов слюны

Для исследования в каждом случае собирали три порции слюны, которые сами пациенты помещали в стерильные пластиковые контейнеры объемом 100 мл.

Первую порцию слюны отбирали натошак утром, сбору второй порции предшествовало жевание жевательной резинки без сахара и глотание выделяющейся слюны в течение 3 минут, сбор третьей порции слюны осуществлялся после нагнетания воздуха в наружный слуховой проход (транстимпанально).

Смывы из полости среднего уха для определения содержания цитокинов получали при проведении лечебной тимпанопункции с помощью разработанного устройства, позволяющего менять объем промывной жидкости (стерильного физиологического раствора) в соответствии с объемом барабанной полости пациента. Приспособление снабжено механизмом автоматической обратной тяги (рисунок 2.2).



Рисунок 2.2 – Устройство для получения дозированного смыва из полости среднего уха

Получение образцов плазмы и сыворотки крови

Взятие венозной крови осуществляли посредством пункции локтевой вены с использованием вакуумных систем с активатором свертывания крови или с этилендиаминтетраацетатом калия (КЗЭДТА). Получение капиллярной крови проводили с помощью ланцетов однократного применения и пробирок для сбора капиллярной крови с КЗЭДТА. После центрифугирования образцов крови сыворотку и плазму переносили в полипропиленовые микропробирки типа Эппендорф и помещали до исследования в холодильник или морозильную

камеру.

Получение мазка со слизистой оболочки полости носа

Взятие мазка выполняли у группы больных, имеющих отягощенный аллергологический анамнез и жалобы на длительные, затяжные насморки. Условием взятия материала было исключение назальных лекарственных препаратов, содержащих кортикостероиды, в течение суток до исследования.

После предварительного туалета полости носа осуществляли взятие образца носового секрета со слизистой оболочки с помощью стерильной цитошетки в области переднего конца нижней носовой раковины, из которого на предметном стекле изготовлялся мазок.

2.3. Лабораторные методы исследований

Клинические лабораторные исследования

Всем обследуемым было выполнено комплексное лабораторное клиническое исследование, включающее клинический анализ крови и общий анализ мочи. Исследования образцов крови проводили на автоматическом гематологическом анализаторе Micros 60 OT8 (ABX, Франция). Образцы мочи исследовали с использованием анализатора мочи Urisys 1100 (Roche, Швейцария) и тест-полосок Combur10UX, позволяющие определять 10 параметров: pH, относительную плотность, глюкозу, белок, билирубин, уробилиноген, кетоновые тела, нитриты, кровь, лейкоциты. Помимо анализаторов применяли метод микроскопии [Меньшиков В.В., 1987].

Цитологическое исследование отделяемого слизистой оболочки полости носа

Исследование проводилось в клинической лаборатории лабораторно-диагностического отдела СПб НИИ ЛОР. После фиксирования препарат окрашивали по методу Романовского – Гимзы. Идентификацию и подсчет клеток крови в мазке осуществляли под иммерсионной системой светового микроскопа при объективе 40х, окуляре 10х. При оценке результатов исследования использованы данные, полученные в группе контроля людей [Фаянс А.А., 1996]. На основании этих данных были определены критерии для оценки мазка:

- нейтрофилия – при содержании нейтрофилов $\geq 70\%$,
- эозинофилия – при содержании эозинофилов $\geq 5\%$,
- лимфоцитоз – при наличии лимфоцитов.

Морфологический анализ биологических жидкостей. Методы клиновидной и краевой дегидратации

Для морфологического исследования твердой фазы смывов из слуховой трубы, барабанной полости и порций слюны образцы были приготовлены методами клиновидной и краевой дегидратации [Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., 2001]. С помощью автоматического пипеточного дозатора исследуемую жидкость помещали на предметное стекло. Для постановки метода клиновидной дегидратации использовали жидкость объемом 5 мкл, для постановки метода краевой дегидратации – объемом 10 мкл. Предметные стекла предварительно были обработаны 0,02% раствором лецитина. Препараты высушивали в течение суток в условиях комнатной температуры воздуха (18 – 20°C) и относительной влажности воздуха 60-70%. При этом обеспечивали отсутствие потоков воздуха над препаратами. Морфологический анализ структуры биологических жидкостей, находящихся в твердой фазе, проводили при световой микроскопии в проходящем свете при окуляре 5 х, объективе 4 х.

Биохимические методы исследования крови и регионарных внешних секретов

Определение общего холестерина. Использована ПАП-методология, предложенная Р. Trinder (1969) и получившая название от аббревиатуры названия вещества «p-aminophenazon». Холестерин из состава эфиров высвобождается под действием фермента холестеринэстеразы (ХЭ). При участии холестериноксидазы холестерин окисляется до 4-холестен-3-она. Образующаяся перекись водорода, при участии фермента пероксидазы, способствует окислительному азосочетанию 4-аминоантипирина и фенола с образованием окрашенного соединения (хинониминный краситель). Интенсивность окраски реакционной среды пропорциональна содержанию холестерина в исследуемом материале и определяется фотометрически при длине волны 500 нм [Меньшиков В.В., 1987, Камышников В.С., 2003].

Использован набор реагентов «Холестерин-Витал-12» производства ООО «Vital Diagnostics» (Санкт-Петербург).

Определение триглицеридов. Применен энзиматический колориметрический ПАП-метод [Bucolo G., David H., 1973]. Использован набор реагентов «Триглицериды-Витал-12» производства ООО «Vital Diagnostics» (Санкт-Петербург).

Определение липопротеинов высокой плотности. Осаждение хиломикронов, липопротеинов очень низкой плотности и липопротеинов низкой плотности выполнялось с помощью добавления к образцу фосфорновольфрамовой кислоты, хлорида магния. В результате супернатант содержал только липопротеины высокой плотности (ЛПВП), которые были определены так же, как и общий холестерин.

Использованы наборы реагентов «HDL-Холестерин-Витал» и «Холестерин-Витал-12» производства ООО «Vital Diagnostics» (Санкт-Петербург).

Определение липидного спектра крови. Сопоставляются уровни содержания в крови ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП. По соотношению показателей концентрации атерогенных (ХС-ЛПОНП) и антиатерогенных (ХС-ЛПВП) липопротеинов можно судить об их балансе. Выполнен расчет коэффициента атерогенности (КА)

Оценка липопротеинового распределения общего холестерина проведена по определению его содержания в двух пробах – в цельной сыворотке и сыворотке, лишенной апо-В-липопротеинов.

Выполнен расчет концентрации липопротеинов низкой плотности по формуле:

$$\text{ЛПНП} = \text{ХС общий} - \text{ЛПВП} - \text{ЛПОНП}$$

Расчет содержания липопротеинов очень низкой плотности выполнен по формуле:

$$\text{ЛПОНП} = \text{TГ}/2,2.$$

Для оценки показателей липидного обмена использованы критерии Национальной образовательной программы США (2001) (таблица 2.2).

Таблица 2.2 – Критерии оценки показателей липидного обмена

Аналиты		Ед. изм.	Желательный диапазон	Диапазон вероятных нарушений	Патологические уровни
Холестерин общий		ммоль/л	< 5,2	5,2 – 6,1	> 6,1
Триглицериды		г/л	0,13 – 1,6	1,6 – 2,0	> 2,0
ЛПВП	м.	ммоль/л	> 1,42	0,9 – 1,42	< 0,9
	ж.		> 1,68	1,16 – 1,68	< 1,16
ЛПНП		ммоль/л	< 3,9	3,9 – 4,9	> 4,9
ЛПОНП		ммоль/л	0,068 – 0,83	0,83 – 1,04	> 1,04
Коэффициент атерогенности			< 3	3 – 4	> 4

Оценка иммунологической функции небных миндалин

Функциональное состояние небных миндалин оценивали на основании результатов комплексного цитологического и бактериологического исследования смывной жидкости из лакун небных миндалин по критериям, предложенным Е.Л. Поповым и соавт. (1992).

Цитологическое исследование промывной жидкости крипт небных миндалин выполнялось в камере Горяева методом фазово-контрастной микроскопии нативного материала при объективе 40х, окуляре 7х. Определяли содержание клеток лимфоидного ряда в 1 большом квадрате и эпителиальных клеток в 100 больших квадратах камеры Горяева. Нейтрофилы не были учтены, т.к. они составляют при хроническом тонзиллите малую долю. Изучали состояние жидкой фазы – оценивали степень ее мутности и наличия детрита.

Помимо цитологической оценки материала проведена микроскопическая оценка степени микробной обсемененности и морфологического характера микрофлоры (кокки, палочки, спирохеты, мицелии). Отмечен характер

обсемененности смывного материала микроорганизмами в виде микроколоний или отдельных клеток.

Бактериологическое исследование жидкости из крипт небных миндалин выполнялось посевом 50 мкл образца на кровяной мясопептонный агар с инкубацией в термостате при 37° С в течение суток. Подсчет общего числа выросших колоний микроорганизмов проводился в отраженном свете под стереомикроскопом МПСУ-1 при объективе 1х, окуляре 12х. На следующем этапе была определена видовая принадлежность высеянных микроорганизмов по морфологическим, культуральным признакам и гемолитической активности (согласно положениям приказа Минздрава СССР от 22.04.1985 г. № 535).

Полуколичественная оценка результатов первичного посева на плотных питательных средах проведена по пяти степеням роста микроорганизмов (от 0 до 4).

По результатам исследований определяли функциональную активность небных миндалин с учетом общей бактериальной обсемененности, обсемененности отдельными видами микроорганизмов, содержании лимфоцитов в материале из лакун.

Исследования иммунологической функции небных миндалин проведено в микробиологической лаборатории СПб НИИ ЛОР.

Гистологическое исследование операционного материала из ЛОР-органов проведено в лаборатории СПб ГБУЗ "Городское патологоанатомическое бюро" при Санкт-Петербургском городском клиническом онкологическом диспансере.

Изучение срезов холестеатомы выполнено руководителем биохимического отдела СПб НИИЭМ РАН д.б.н. А.Д. Денисенко и ведущим научным сотрудником д.б.н. П.В. Пигаревским.

Исследование газового состава выдыхаемого воздуха выполнено с помощью анализатора «Мультисенс-5», разработчик и производитель ООО «АМА» (Санкт-Петербург). Неинвазивный аналитический метод основан на реакции компонентов выдыхаемого воздуха пациентов с полупроводниковыми

электрохимическими газовыми сенсорами. Газовый анализатор «Мультисенс-5» является многопараметрическим измерительным устройством (рисунок 2.3) и состоит из аспирационного блока, пяти полупроводниковых резистивных сенсоров, блока электронного преобразования сигналов сенсоров и аналого-цифрового преобразователя, подключенного к компьютеру.

Полупроводниковые резистивные сенсоры обладают чувствительностью к ряду летучих соединений: сенсор 1 – к алканам, сенсор 2 – к окислителям, летучим жирным кислотам, сенсор 3 – к спиртам, окислителям, сенсор 4 – к аммиаку, спиртам, сенсор 5 – к ацетону и кетоновым телам

Блок электронного преобразования осуществляет преобразование сигналов сенсоров в сигналы, величина которых пропорциональна концентрации газов. Аналого-цифровой преобразователь изменяет формат сигналов из аналогового в цифровой, в котором информация поступает в компьютер. Математическая обработка данных выполнена с помощью компьютерной программы «Электронный нос» (разработчик ООО «АМА», Санкт-Петербург).

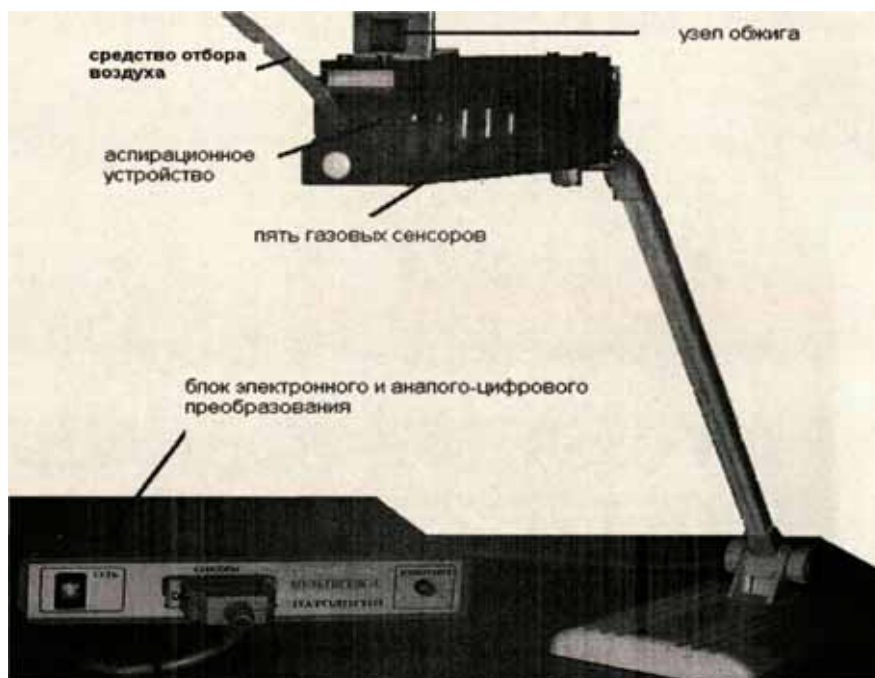


Рисунок 2.3 – Анализатор газового состава выдыхаемого воздуха «Мультисенс-5».

Определение фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов крови

Метод основан на определении поглотительной способности нейтрофилов крови по отношению к объекту фагоцитоза. После инкубации исследуемых лейкоцитов в присутствии объекта фагоцитоза производился подсчет доли фагоцитирующих клеток и среднего количества поглощенных объектов одним фагоцитом. В качестве объекта фагоцитоза были использованы латексные гранулы размером 1,3 – 1,5 мкм.

Использовали концентрацию лейкоцитов 2×10^8 клеток/мл. Смесь лейкоцитов и латекса была инкубирована в водяной бане при 37° С в течение 30 мин с периодическим встряхиванием, т.к. именно в течение получаса формируется пик поглотительной активности фагоцитов. После инкубации осадок был высушен на предметном стекле (комнатная температура). Затем репараты окрашивались красителем Май-Грюнвальда. Готовые препараты были проанализированы под иммерсионной системой светового микроскопа при объективе 90х, окуляре 10х. Под микроскопом просматривали 200 клеток и определяли следующие показатели:

- фагоцитарный показатель (фагоцитарная активность) – относительное количество фагоцитов, поглотивших частицы латекса, от общего количества просмотренных клеток (норма 65 – 95%);

- фагоцитарное число (фагоцитарный индекс) – среднее число частиц латекса, поглощенных фагоцитом (норма 5 – 10 Ед.) [Лебедев К.А., Понякина И.Д., 1990].

Определение в крови антимикробных белков и пептидов, цитокинов и общих иммуноглобулинов классов А, М, G, E

Для этого была использована стабилизированная плазма венозной и капиллярной крови (из мочки больного уха у больных наружным отитом), забранной в пробирки с КЗЭДТА. Образцы плазмы были заморожены при $t = -30^{\circ}\text{C}$. Определение иммунологических показателей в крови осуществляли с помощью метода твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Перед

проведением анализа температура пробы размораживали и доводили до комнатной температуры.

Определение содержания исследуемого вещества в образце проводилось по сэндвич-методу твердофазного ИФА. Образцы и стандарты инкубировали в лунках микропланшета, покрытых антителами, специфичными к антигенам исследуемого вещества. В результате инкубации антитела, сорбированные на твердой фазе, захватывали молекулы определяемого вещества. При последующей отмывке из лунок удалялись несвязавшиеся компоненты пробы. Далее в ячейки вносился раствор биотинилированных вторых антител (трейсер), которые связывали «сэндвич» третьим слоем. С помощью отмывки удаляли избыток трейсера.

Следующим этапом было внесение в лунки планшета конъюгата стрептавидин-пероксидаза, который специфически взаимодействует с биотином биотинилированных антител, связавшихся с молекулами определяемого вещества. Избыток конъюгата был также удален отмывкой, после чего в лунки вносили смесь перекиси водорода и тетраметилбензидина. Остановка цветной ферментативной реакции достигалась добавлением кислоты. Абсорбцию образцов измеряли с помощью вертикального фотометра при 450 нм. Концентрация аналита в пробах была определена по стандартной кривой, полученной с помощью графика зависимости оптической плотности от известной концентрации стандартов [Кишкун А.А., 2009].

Определение цитокинов из отделяемого полости среднего уха

Определение концентрации цитокинов в отделяемом из среднего уха выполнено в лаборатории ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России с помощью наборов реагентов для иммуноферментного анализа производства ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург).

Определение С-реактивного белка у больных БНДО было проведено при помощи иммунотурбидиметрического метода с использованием наборов реагентов производства Erba Lachema. Образование преципитирующих иммунных комплексов сопровождается увеличением мутности реакционной среды

пропорционально концентрации СРБ в образце. Фотометрия осуществлялась при 340 нм.

Комплексное определение С-реактивного белка, ревматофактора и антистрептолизина О в крови больным хроническим тонзиллитом проведено с использованием наборов реагентов фирмы BioSystems (Испания). Результаты реакции регистрировались турбодиметрическим методом на полуавтоматическом иммунотубидиметрическом анализаторе BTS-350 (Испания). Используемые наборы реагентов положительно реагируют с неразбавленной сывороткой, содержащей С-реактивный белок в концентрации ≥ 6 мг/л, ревматоидный фактор в концентрации ≥ 8 МЕ/мл, антистрептолизин О в концентрации ≥ 200 МЕ/мл.

Бактериологические исследования

У больных наружным диффузным отитом проводили бактериологическое исследование отделяемого из наружного слухового прохода. Материал отбирали с помощью стерильной марлевой турунды и в стерильных пробирках в течение часа доставляли в лабораторию. Выполнены посевы на жидкие и плотные питательные среды. После инкубации посевов в термостате при 37° С в течение суток из выросших колоний изготавливали препараты, окрашенные по Граму, выполняли микроскопию препаратов под иммерсионной системой светового микроскопа при объективе 90х, окуляре 10х. После определения морфологических и тинкториальных свойств проводили дальнейшую идентификацию, количественную оценку роста и определение видового состава бактерий отсевом на элективные среды.

В целях определения лекарственной устойчивости микроорганизмов на плотной питательную среду в чашке Петри наносился 1 мл смыва с 18-24 часовой культуры. Суспензию бактерий распределяли равномерно по чашке, избыток суспензии удаляли пастеровской пипеткой. После подсушки открытых чашек в течение 30 мин. при комнатной температуре на поверхность обсемененной плотной среды помещали стандартные диски с антибиотиками. Учет результатов проводили после инкубации чашек в термостате в течение 18 часов при 37° С

методом замера максимального диаметра зоны отсутствия роста бактерий вокруг дисков.

При высеве стафилококков была исследована их коагулазная, гемолитическая и лецитовителлазная активность. Для определения коагулазы была использована кроличья плазма. Результаты считали положительными при образовании плотного сгустка вследствие коагуляции плазмы. Активность лецитовителлазы оценивали по образованию на поверхности желточно-солевого агара зон помутнения и радужных венцов вокруг колоний. Гемолитическая активность стафилококков определялась по результатам посева на 5% кровяном агаре [Коротяев А.И., Бабичев С.А., 1998].

Микроскопию нативного материала (отделяемого из наружного слухового прохода) проводили следующим образом. Материал наносили на предметное стекло и обрабатывали 20% раствором натрия гидроксида. После фиксации его накрывали покровным стеклом и доставляли в клиническую лабораторию. Световая микроскопия препаратов выполнялась под иммерсионной системой светового микроскопа при объективе 90х, окуляре 10х [Милованова З.П., 1996; Цинзелинг А.В., Шалыгина Н.Б., 1996].

Определение маркеров герпесвирусных инфекций ВЭБ и ЦМВ в крови обследуемых больных связано с выявлением специфических антител к указанным вирусам. Для этого использовали иммуноферментные тест-системы ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Для промывки твердой фазы применяли промыватель для планшетов PW-40 производства фирмы BioRad (США). Для регистрации результатов исследований применяли вертикальный фотометр Multiscan EX производства фирмы Labsystems (Финляндия). Материалом служила сыворотка венозной крови.

Определение маркеров инфекций *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae*

В крови пациентов определяли иммунологические маркеры специфических антител классов IgA, IgM и IgG к *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae* методом ИФА. Для этого использовали иммуноферментные тест-

системы производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Для промывки твердой фазы применяли промыватель для планшетов PW-40 производства фирмы BioRad (США). Для регистрации результатов исследований применяли вертикальный фотометр Multiscan EX производства фирмы Labsystems (Финляндия). Материалом служила сыворотка венозной крови.

Определение ДНК ВЭБ, ЦМВ, *Myc. pneumoniae* и *Chl. pneumoniae*

Молекулярно-генетический (ПЦР) анализ крови и слюны для определения ДНК ВЭБ, ЦМВ, *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae* выполнены на базе ФБУН «СПб НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора и ООО «Научно-производственная Фирма «ХЕЛИКС» (Санкт-Петербург).

Коагулометрические методы исследований крови

Для взятия венозной крови были использованы вакуумные системы с антикоагулянтом – цитратом натрия.

Были определены АЧТВ и протромбиновое время с расчетом % протромбина по Квику, МНО и фибриногена. Расширенное гемостазиологическое исследование (коагулограмма) включало оценку агрегационной способности тромбоцитов. Адгезионно-агрегационная способность тромбоцитов была определена по методу Борна с использованием адреналина (концентрация 2,5 мкмоль/л) в качестве индуктора агрегации тромбоцитов.

Для подсчета тромбоцитов в крови был использован гематологический анализатор ABX Micros-60 OT8 производства фирмы Horiba (Франция), для анализа агрегации тромбоцитов – агрегометр AP 2110 «Solar» (Республика Беларусь), для прочих коагулометрических тестов – автоматизированная коагулологическая лаборатория ACL Elite Pro 9000 производства фирмы Instrumentation Laboratory (США).

2.4. Методы статистического анализа результатов исследований

Результаты исследований проанализированы с использованием компьютерной программы «STATISTICA» (for Windows, ver. 5.5).

В группах исследования сравнение значений количественных показателей проводили с помощью t-критерия Стьюдента, критериев Вальда, Крускала – Уоллиса, Манна – Уитни, Колмогорова – Смирнова, медианного (χ -квадрат) и модуля ANOVA [Боровиков В. П., 2001; Юнкеров В.И., Григорьев С.Г., 2005]. Оценку исследуемых показателей в динамике лечения проводили с использованием критерия Вилкоксона [Боровиков В. П., 2001], критерия знаков [Реброва О.В., 2002] и критерия Фридмана [Юнкеров В.И., Григорьев С.Г., 2005].

Для наглядного представления данных и их анализа использовали графические приложения программы «Statistica» (for Windows) и мастер построения диаграмм в программе Exel (Microsoft Office). Для графического отображения частотных характеристик изученных признаков выполнено построение столбиковых диаграмм. Количественные значения изученных показателей для наглядности представлены в виде диаграмм «Box & Whisker Plot» с отображением средних значений, ошибки средних и стандартного отклонения. Доверительные интервалы для частотных показателей рассчитывали с использованием метода Фишера.

В качестве критерия статистической значимости выводов была использована общепринятая в медицине величина $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. МЕТАБОЛОМНЫЙ АНАЛИЗ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ

3.1. Результаты клинических лабораторных исследований

У больных хроническим тонзиллитом характерным признаком является очаговое воспаление небных миндалин инфекционного генеза. Системная реакция организма на очаговое воспаление может быть выявлена с помощью клинического анализа крови. С целью определения наличия и степени выраженности системной реакции и возможных нарушений функции почек были выполнены клинический анализ крови и общий анализ мочи. Всего обследовано 56 больных и 27 добровольцев группы контроля.

Результаты клинического анализа крови показали, что в группах больных с компенсированной и с декомпенсированной формами хронического тонзиллита средние значения измеряемых параметров не выходили за пределы референсных диапазонов. При этом гематологические показатели статистически значимо не отличались между обеими группами больных и группой контроля.

Результаты общих анализов мочи у больных в группах исследования и контроля показали, что во всех случаях относительная плотность мочи, как показатель концентрационной функции почек, была в пределах референсных значений (1,020 – 1,026 г/л). Содержание в моче эпителиальных клеток, а также лейкоцитов, свидетельствующих о воспалительном процессе в почках и мочевыводящих путях, было тоже в пределах нормы (от 0 до 3 клеток в поле зрения). Протеинурия, гематурия, цилиндрурия и бактериурия отсутствовали во всех наблюдениях.

Отсутствие патологических отклонений в результатах клинического анализа крови и общего анализа мочи отражает локальный характер воспалительного процесса у больных хроническим тонзиллитом, в то время как при системной воспалительной реакции в крови проявляется нейтрофилез, увеличение количества незрелых форм нейтрофилов в лейкоцитарной формуле, увеличение СОЭ. Вместе с тем, несмотря на отсутствие патологических отклонений

показателей клинического анализа крови, необходимо проведение других лабораторных исследований для адекватной диагностики заболевания и выбора метода лечения больных.

3.2. Определение в крови иммунологических показателей

В целях диагностики осложнений хронического тонзиллита, выявления аутоиммунных заболеваний и стрептококковой инфекции у обследованных больных определяли в сыворотке венозной крови С-реактивный белок (СРБ) и ревматоидный фактор (РФ), а также антистрептолизин О (АСЛ-О).

Для определения этих показателей использовали сыворотку крови у 105 больных хроническим тонзиллитом, а также у 27 людей контрольной группы. Больные хроническим тонзиллитом были разделены на 2 группы: 65 пациентов с компенсированной формой хронического тонзиллита и 40 – с декомпенсированной. Результаты исследований представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Иммунологические показатели в крови больных хроническим тонзиллитом

Аналит	Число больных с повышенными значениями показателей				
	компенсированная форма		Статистическая значимость различий, t	декомпенсированная форма	
	абс.	%		абс.	%
С-реактивный белок, мг/л	7	10,7	$p < 0,05$	0	0
Ревмофактор, МЕ/мл	0	0	$p > 0,05$	1	2,4
Антистрептолизин-О, МЕ/мл	10	15,4	$p < 0,05$	16	40,0

Представленные данные свидетельствуют о некоторых отличиях частоты выявления в крови повышенных значений СРБ, ревматоидного фактора и АСЛ-О

(маркера стрептококковой инфекции) в группах. Так, только у больных с компенсированной формой хронического тонзиллита выявлены повышенные уровни СРБ (10,8%) ($p < 0,05$).

Ревмофактор в крови выявлен только у пациентов группы декомпенсированного хронического тонзиллита в 2,5% случаев ($p > 0,05$). Этот факт свидетельствует о возможном развитии системных заболеваний соединительной ткани на фоне или вследствие снижения активности небных миндалин.

Повышенные уровни антистрептолизина О (>200 МЕ/мл) выявлены в обеих группах, но у больных с декомпенсированной формой хронического тонзиллита это было в 40% случаев, что статистически значимо чаще, чем у больных с компенсированной формой (15,4%) ($p < 0,05$). Обращает внимание тот факт, что при декомпенсированном хроническом тонзиллите превышение нормы было 2-х и 3-х кратным (400-600 МЕ/мл), а в группе больных с компенсированной формой хронического тонзиллита значения АСЛ-О были на верхней границе нормы ($=200$ МЕ/мл).

Результаты определения в крови иммунологических показателей можно интерпретировать следующим образом. Повышение СРБ, выявленное при компенсированной форме хронического тонзиллита, оказалось не связанным с обострением воспаления небных миндалин, и поэтому не может служить признаком этой формы патологии.

Повышение в крови ревмофактора выявлено только при декомпенсированном хроническом тонзиллите, однако отличие не было статистически значимым ($p > 0,05$). Содержание АСЛ-О в крови при декомпенсации небных миндалин выявлялось не только статистически значимо чаще, но и на более высоких уровнях, чем при компенсированном хроническом тонзиллите. Этот факт свидетельствует о более активном иммунологическом ответе организма на стрептококковую инфекцию, но, вместе с тем, не может рассматриваться как диагностически значимый признак при дифференциальной диагностике хронического тонзиллита.

По результатам настоящего исследования СРБ при хроническом тонзиллите повышается в малой части случаев (10,8%). Полученные данные согласуются с данными литературы о содержании СРБ при хроническом тонзиллите [Тырнова Е.В., Мальцева Г.С., 2005]. Уровень СРБ в крови зависит от остроты воспаления небных миндалин [Лопотко И.А., 1963].

В контрольной группе при отсутствии хронического воспаления небных миндалин не наблюдалось повышенных значений всех изученных показателей крови (СРБ, РФ, АСЛ-О). Характерной картины изученных показателей для каждой группы исследования не выявлено.

3.3. Показатели иммунологической функции небных миндалин

Иммунологическая активность небных миндалин была изучена у 87 пациентов группы исследования и у 26 лиц контрольной группы. Результаты бактериологических и цитологических анализов материала из небных миндалин представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Цитологическая характеристика и степень бактериальной обсемененности крипт небных миндалин у больных хроническим тонзиллитом

Группы	Хронический тонзиллит, n=87	Статистическая значимость различий, t	Контрольная группа, n=26
Лимфоциты, $\times 10^6$ клеток/мл	$59,4 \pm 15,7$	$p < 0,05$	$36,9 \pm 20,7$
Эпителиальные клетки, $\times 10^6$ клеток/мл	$187,0 \pm 39,3$	$p < 0,05$	$107,0 \pm 19,3$
Бактериальная обсемененность, микробных клеток/мл	$12,7 \pm 2,3 \times 10^5$	$p < 0,05$	$7,3 \pm 0,51 \times 10^3$

Цитологический анализ материала из небных миндалин выявил, что содержание лимфоцитов у больных хроническим тонзиллитом составило $59,4 \pm 15,7 \times 10^6$ клеток/мл и статистически значимо превышало ($p < 0,05$) таковое в

контрольной группе ($36,9 \pm 20,7 \times 10^6$ клеток/мл). Содержание эпителиальных клеток при хроническом тонзиллите было так же статистически значимо ($p < 0,05$) выше ($187,0 \pm 39,3 \times 10^6$ клеток/мл), чем в группе контроля ($107,0 \pm 19,3 \times 10^6$ клеток/мл).

Бактериологическое исследование материала из небных миндалин продемонстрировало более высокую бактериальную обсемененность у больных ХТ. Среднее значение общей бактериальной обсемененности в криптах у больных хроническим тонзиллитом составило $12,7 \pm 2,3 \times 10^5$ микробных клеток/мл, которое превышало аналогичный показатель в группе контроля ($7,3 \pm 0,51 \times 10^3$ микробных клеток/мл) ($p < 0,05$).

Увеличение содержания в криптах небных миндалин лимфоцитов свидетельствует об усилении лимфоцитопоэтической активности миндалин. Эта активность стимулирована увеличением бактериальной обсемененности крипт небных миндалин, а увеличение в них количества эпителиальных клеток является результатом десквамации эпителия, что сопровождается местную хроническую воспалительную реакцию. Такая картина расценивается как напряженность функциональной активности небных миндалин, направленная на элиминацию повышенного бактериального обсеменения.

Цитологические и бактериологические показатели смывов крипт небных миндалин в группе контроля свидетельствуют о спокойном состоянии лимфоцитопоэтической функции миндалин и их функциональной полноценности.

Уровни показателей функциональной активности небных миндалин у всех больных имели неоднородный характер, поэтому полученные результаты были проанализированы более детально. При анализе данных были использованы бактериологические и цитологические критерии, с помощью которых удалось распределить больных хроническим тонзиллитом по трем вариантам наблюдения.

К первому варианту были отнесены пациенты с близкими к нормальным значениями обсеменения крипт небных миндалин и лимфоцитопоэтической активности ткани небных миндалин. Такое состояние небных миндалин характеризовалось содержанием лимфоцитов $< 20 \text{ кл.} \times 10^6/\text{мл}$ при невысоком

(<10⁴ микробных клеток/мл) обсеменении небных миндалин бактериями и расценивалось как соответствующее полноценной (нормальной) функциональной активности небных миндалин.

Ко второму варианту были отнесены пациенты с высокой продукцией лимфоцитов в небных миндалинах (от 21 до 150 кл. х 10⁶/мл) в сочетании с высоким бактериальным обсеменением крипт (от 10⁴ до 10⁵ микробных клеток/мл). Такие показатели расценивались как свидетельство определенной напряженности (повышенной) функциональной активности небных миндалин, при которой лимфоидная ткань небных миндалин реагирует на повышенную бактериальную обсемененность в криптах. Считается, что такая реакция направлена на элиминацию избыточного количества микроорганизмов [Попов Е.Л. и соавт., 1992].

Третий вариант наблюдения составили больные с пониженной иммунологической активностью небных миндалин, проявлявшейся низким содержанием клеток лимфоидного ряда в криптах (<15 х 10⁶ клеток/мл) на фоне бактериальной обсемененности высокой степени (>10⁵ микробных клеток/мл). Это состояние расценивалось как свидетельство начала декомпенсации функции небных миндалин, при которой происходит истощение их функционального резерва в процессе реагирования на повышенное бактериальное обсеменение крипт.

Распределение больных хроническим тонзиллитом по цитологическим и бактериологическим критериям состояния небных миндалин представлено в таблице 3.3.

Анализ уровня функциональной активности небных миндалин показал различия частоты 3 вариантов наблюдения. Нормальная активность выявлена в приблизительно равных долях случаев при компенсированной (15,8%) и декомпенсированной формах (16,6%) хронического тонзиллита ($p>0,05$), но в 2 раза чаще в группе контроля (30,7%) ($p<0,05$).

Таблица 3.3 – Результаты определения уровня активности иммунологической функции небных миндалин

Уровень активности небных миндалин	Больные хроническим тонзиллитом				Контрольная группа, n=26	
	компенсированная форма, n=57		декомпенсированная форма, n=30			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Нормальная	9	15,8	5	16,6	8	30,7
Повышенная	17	29,8	12	40,0	10	38,5
Пониженная	31	54,4	13	43,3	8	30,7
Повышенная + пониженная	48	84,2	25	83,3	18	69,2
Уровни значимости различий доли случаев выявления нормальной функциональной активности небных миндалин						
Группы		Декомпенсированная форма		Контрольная группа		
компенсированная форма		p>0,05		p<0,05		
декомпенсированная форма				p<0,05		
Уровни значимости различий доли случаев выявления повышенной функциональной активности небных миндалин						
Группы		Декомпенсированная форма		Контрольная группа		
компенсированная форма		p<0,05		p<0,05		
декомпенсированная форма				p>0,05		
Уровни значимости различий доли случаев выявления пониженной функциональной активности небных миндалин						
Группы		Декомпенсированная форма		Контрольная группа		
компенсированная форма		p<0,05		p<0,05		
декомпенсированная форма				p<0,05		

Продолжение таблицы 3.3.

Уровни значимости различий доли случаев выявления повышенной и пониженной функциональной активности небных миндалин		
Группы	Декомпенсированная форма	Контрольная группа
компенсированная форма	$p > 0,05$	$p < 0,05$
декомпенсированная		$p < 0,05$

Повышенная активность в большей части случаев выявлена при декомпенсированной форме хронического тонзиллита (40,0%) и в группе контроля (38,5%) ($p > 0,05$), в меньшей – при компенсированной форме (29,8%) ($p < 0,05$).

Пониженная активность в большей части случаев выявлена при компенсированной форме (54,4%) хронического тонзиллита, в несколько меньшей (43,3%) ($p < 0,05$) при декомпенсированной форме и в наименьшей (30,7%) – в группе контроля ($p < 0,05$). Суммарная доля случаев выявления измененной (повышенная+пониженная) функциональной активности небных миндалин была одинаковой при обеих формах хронического тонзиллита (84,2% и 83,3%, $p > 0,05$) и большей по сравнению с группой контроля (69,2%) ($p < 0,05$).

Таким образом, все 3 варианта функциональной активности небных миндалин выявлены как в обеих группах больных хроническим тонзиллитом, так и в группе контроля. Несмотря на отличающееся распределение вариантов внутри групп, дифференцировать между собой формы ХТ, а также и группы больных хроническим тонзиллитом и людей без данной патологии по критериям уровня функциональной активности небных миндалин не представляется возможным.

3.4. Спектр бактериальной флоры небных миндалин

Образцы смывов из крипт небных миндалин были направлены на бактериологическое исследование для оценки спектра вегетирующих микроорганизмов. Результаты анализа, распределенные по группам исследования, представлены в таблице 3.4.

Выделенная микрофлора подразделялась на условно-патогенные (УПМ) и резидентные микроорганизмы (РМ). В группе условно-патогенных микроорганизмов преимущественно высевались *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* и *Klebsiella*. Резидентная микрофлора была представлена *Streptococcus spp.*, *Streptococcus viridans*, *Neisseria spp.*, *Micrococcus catarrhalis*.

Таблица 3.4 – Результаты бактериологического исследования смывов из крипт небных миндалин

Виды микроорганизмов	Больные хроническим тонзиллитом, n=105		Контрольная группа, n=27	
	абс.	%	абс.	%
<i>S. aureus</i>	49	46,7	10	37,0
<i>S. pyogenes</i>	4	3,8	0	0
<i>Klebsiella</i>	3	2,9	0	0
Всего УПМ:	56	53,3	10	37,0
<i>Neisseria spp.</i>	34	32,4	16	59,3
<i>S. viridans</i>	32	30,5	20	74,1
<i>Streptococcus spp.</i>	48	45,7	14	51,9
<i>Micrococcus catarrhalis</i>	23	21,9	11	40,7
Всего РМ:	103	98,1	27	100
Бактериальные ассоциации	90	85,7	26	96,3
Монокультура	15	14,3	1	3,7

Анализ результатов бактериологического исследования материала из небных миндалин выявил, что в большей части случаев (53,3%) условно-патогенные микроорганизмы выделены у больных хроническим тонзиллитом. Это различие по сравнению с группой контроля (37,0%) имеет статистическую значимость ($p < 0,05$). При этом в группе контроля УПМ представлена только золотистым стафилококком. У больных хроническим тонзиллитом помимо более

высокой частоты высеваемости *Staphylococcus aureus* (46,7% против 37,0% в группе контроля, $p < 0,05$) были обнаружены бета-гемолитический стрептококк группы А (3,8%) и клебсиелла (2,9%).

Резидентная микрофлора была высеяна у большинства больных хроническим тонзиллитом (98,1%) и у всех (100%) в контрольной группе ($p > 0,05$). При этом в группе контроля в статистически значимо большей части случаев по сравнению с больными высевались *Neisseria spp.* (59,3% против 37,0%, $p < 0,05$), зеленающий стрептококк (74,1% против 30,5%, $p < 0,05$) и *Micrococcus catarrhalis* (40,7% против 21,9%, $p < 0,05$).

Следует отметить, что в большей части случаев микрофлора в целом высевалась в виде бактериальных ассоциаций, но в группе контроля несколько чаще (96,3% против 85,7%, $p < 0,05$). Напротив, монокультуры были получены в значительно большей части случаев у больных хроническим тонзиллитом (14,3% против 3,7%, $p < 0,05$). При этом в виде монокультуры в группе контроля был только один из представителей резидентной микрофлоры (*Streptococcus viridans*), а у больных хроническим тонзиллитом в монокультуре высевалась и условно-патогенная микрофлора.

Результаты анализа частоты выявления условно-патогенной микрофлоры в ассоциации с резидентной микрофлорой и в монокультуре представлены таблице 3.5.

Условно-патогенная микрофлора в обеих группах была выделена как в ассоциации, так и в монокультуре. В ассоциации с резидентной условно-патогенная микрофлора была высеяна у половины больных хроническим тонзиллитом (53,3%), а в монокультуре – в 2,8% случаев. В группе контроля условно-патогенная микрофлора, представленная золотистым стафилококком, была выделена только в ассоциации с резидентной.

У больных хроническим тонзиллитом *Staphylococcus aureus* также высевался только в ассоциации с резидентной микрофлорой. Бета-гемолитический стрептококк группы А и клебсиелла высевались в равной части случаев как в ассоциациях (1,9% и 1,9%, соответственно), так и в монокультуре

(1,9% и 0,9%, соответственно).

Таблица 3.5 – Частота выделения условно-патогенной микрофлоры в ассоциации с резидентной микрофлорой и в монокультуре в смывах из крипт небных миндалин

Виды микроорганизмов	Ассоциации				Монокультура условно-патогенной микрофлоры			
	Больные ХТ		Группа контроля		Больные ХТ		Группа контроля	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	49	46,7	10	37,0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	1,9	0	0	2	1,9	0	0
<i>Klebsiella</i>	2	1,9	0	0	1	0,9	0	0
Всего:	53	50,5	10	37,0	3	2,8	0	0

Таким образом, отсутствие золотистого стафилококка в монокультуре как в группе контроля, так и у больных косвенно свидетельствует о носительстве. Однако высеваемость *Staphylococcus aureus* при хроническом тонзиллите все же выше – 46,7% против 37,0% в группе контроля ($p < 0,05$), что можно отнести за счет снижения антимикробной резистентности небных миндалин. Бактериологическая картина крипт небных миндалин у больных хроническим тонзиллитом характеризуется меньшим присутствием резидентной микрофлоры, чем в группе контроля, и большим спектром условно-патогенной микрофлоры за счет бета-гемолитического стрептококка группы А и клебсиеллы. В итоге, в каждом индивидуальном случае наиболее информативным признаком хронического тонзиллита является выделение из небных миндалин *Streptococcus pyogenes* и/или *Klebsiella*, но низкая частота встречаемости этих бактерий не позволяет быть этим признакам статистически значимым критерием.

Отличия бактериологической картины крипт небных миндалин у больных хроническим тонзиллитом при компенсированной и декомпенсированной формах

На следующем этапе был проведен анализ спектра бактериальной микрофлоры у больных с компенсированной формой ХТ (группа 1, n=65 чел.) и пациентов с декомпенсированной формой ХТ (группа 2, n=40 чел.). Характеристика микрофлоры в группах больных в сравнении с группой контроля представлена в таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Результаты бактериологического исследования материала из небных миндалин при компенсированной и декомпенсированной формах ХТ

Виды микроорганизмов	Больные хроническим тонзиллитом				Контрольная группа	
	компенсированная форма		декомпенсированная форма			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>Staph. aureus</i>	32	49,2	17	42,5	10	37,0
<i>Str. pyogenes</i>	3	4,6	1	2,5	0	0
<i>Klebsiella</i>	3	4,6	0	0	0	0
Всего условно- патогенных микроорганизмов	38	58,5	18	45,0	10	37,0
<i>Neisseria spp.</i>	21	32,3	13	32,5	16	59,3
<i>Str. viridans</i>	17	26,1	15	37,5	20	74,1
Всего резидентной микрофлоры	38	58,4	28	70,0	27	100,0

Помимо спектра микрофлоры крипт небных миндалин, у больных хроническим тонзиллитом изучена степень бактериального обсеменения по видам выявленных микроорганизмов. Результаты исследований представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.7 – Степень бактериального обсеменения крипт небных миндалин у больных хроническим тонзиллитом в сравнении с группой контроля, микробных кл. $\times 10^3/\text{мл}$

Виды микроорганизмов	Больные хроническим тонзиллитом		Контрольная группа
	компенсированная форма	декомпенсированная форма	
<i>Staphylococcus aureus</i>	11,2 \pm 3,0	9,2 \pm 2,7	6,2 \pm 2,1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3,4 \pm 0,5	5,2 \pm 0,6	0
<i>Klebsiella</i>	2,4 \pm 0,3	0	0
Всего условно-патогенных микроорганизмов	17,0 \pm 1,2	14,4 \pm 3,3	6,2 \pm 2,1
<i>Neisseria spp.</i>	13,8 \pm 0,5	4,8 \pm 3,2	2,1 \pm 1,5
<i>Str. viridans</i>	12,4 \pm 2,7	9,9 \pm 2,7	6,4 \pm 1,6
<i>M. catarrhalis</i>	9,4 \pm 1,3	2,3 \pm 0,1	1,1 \pm 0,3
<i>Streptococcus spp.</i>	18,4 \pm 4,5	18,2 \pm 3,2	4,4 \pm 3,2
Всего РМ	54,9 \pm 6,5	35,2 \pm 6,2	14,0 \pm 6,6
Итого:	57,4 \pm 12,8	49,6 \pm 12,5	20,2 \pm 8,7

Анализ результатов выполненных исследований показал, что в обеих группах больных средние значения бактериального обсеменения как условно-патогенной, так и резидентной микрофлорой, статистически значимо превышали таковые ($p < 0,05$).

В целом обсеменение УПМ у больных компенсированной формой хронического тонзиллита ($17,0 \pm 1,2 \times 10^3$ микробных клеток/мл) было статистически значимо выше, чем в группе декомпенсированной формы ($14,4 \pm 3,3 \times 10^3$ микробных клеток/мл) ($p < 0,05$) и в группе контроля ($6,2 \pm 2,1 \times 10^3$ микробных клеток/мл) ($p < 0,05$). По отдельным видам УПМ такие различия сохраняются для золотистого стафилококка и клебсиеллы. Исключение составил *Streptococcus pyogenes*, обсеменность которым была выше при декомпенсированном тонзиллите

($p < 0,05$).

Высокая степень обсеменения золотистым стафилококком ($11,2 \pm 3,0 \times 10^3$ микробных клеток/мл) была выявлена в группе компенсированного тонзиллита и превышала таковую в группе контроля в 2 раза ($6,2 \pm 2,1 \times 10^3$ микробных клеток/мл) ($p < 0,05$). Несколько меньшей, но статистически значимо отличающейся от группы контроля, она была и в группе декомпенсированного тонзиллита ($9,2 \pm 2,7 \times 10^3$ микробных клеток/мл) ($p < 0,05$). Обсемененность *Staphylococcus aureus* при компенсированном тонзиллите ($11,2 \pm 3,0 \times 10^3$ микробных клеток/мл) была статистически значимо выше, чем в группе декомпенсированной формы ($9,2 \pm 2,7 \times 10^3$ микробных клеток/мл) ($p < 0,05$).

Обсемененность бета-гемолитическим стрептококком группы А в группе декомпенсированного тонзиллита ($5,2 \pm 0,6 \times 10^3$ микробных клеток/мл) была выше, чем при компенсированном тонзиллите ($3,4 \pm 0,5 \times 10^3$ микробных клеток/мл) ($p < 0,05$), а в группе контроля указанный патоген не был высеян. *Klebsiella* выделена только у больных с компенсированной формой хронического тонзиллита.

Общее обсеменение резидентной микрофлорой у больных хроническим компенсированным тонзиллитом ($54,9 \pm 6,5 \times 10^3$ микробных клеток/мл) было статистически значимо более высоким, чем при декомпенсированной форме ($35,2 \pm 6,2 \times 10^3$ микробных клеток/мл) ($p < 0,05$), и при обеих формах статистически значимо превышало таковое в группе контроля ($14,0 \pm 6,6 \times 10^3$ микробных клеток/мл) ($p < 0,05$).

Таким образом, бактериологическая картина крипт небных миндалин имеет при компенсированной и декомпенсированной формах ХТ следующие различия. При компенсированном хроническом тонзиллите выявляемость условно-патогенной микрофлоры несколько выше, чем при декомпенсированной форме (58,5% и 45,0%), при этом УПМ выявлена и в группе контроля (37%). При этом *Klebsiella* выделена только у больных хроническим компенсированным тонзиллитом. Резидентная микрофлора в группе декомпенсированной формы хронического тонзиллита выявлена чаще, чем при компенсированной форме

(70,0% и 58,4% , соответственно). В целом микрофлора и степень обсемененности у пациентов с компенсированным и декомпенсированным тонзиллитом существенно не отличалась, поэтому результаты бактериологического исследования смывов из лакун небных миндалин не могут использоваться для диагностики хронического тонзиллита и определения компенсированной и декомпенсированной формы.

Результаты настоящего исследования, указывающие на высокую высеваемость и обсемененность *Staphylococcus aureus* в небных миндалинах у больных и в группе контроля, согласуются с данными литературы о большой частоте носительства, но не согласуются с утверждением его этиологической роли при хроническом тонзиллите, учитывая отсутствие выделения золотистого стафилококка в монокультуре как у больных, так и в группе контроля [Мельников О.Ф., 1981].

3.5. Результаты метаболомного анализа выдыхаемого воздуха с помощью технологии «электронный нос»

В настоящее время при обследовании больных предпочтительными являются неинвазивные методы диагностики, которые характеризуются безболезненностью, инфекционной безопасностью, атравматичностью. Анализ состава выдыхаемого воздуха с помощью приборов «электронный нос» (E-nose, EN) является одним из методов неинвазивной диагностики [Вакс В.Л. и соавт., 2014, Степанов Е.В. 2005; D'Amico A. et al., 2012]. Эти приборы обладают чувствительностью к большому спектру летучих веществ, выделяющихся с выдыхаемым воздухом. Есть опыт успешного применения EN-технологий для диагностики заболеваний внутренних органов, в том числе легких [Fens N. et al., 2011, 2013; Wilson A.D., 2015]. Однако, «электронный нос» не применялся для анализа выдыхаемого воздуха при хроническом тонзиллите.

Задачей настоящего раздела исследования явилось изучение информативности результатов анализа газового состава выдыхаемого воздуха при

хроническом тонзиллите для дифференциальной диагностики компенсированной и декомпенсированной формы.

В качестве чувствительных элементов для анализа газов выдыхаемого воздуха были использованы полупроводниковые резистивные сенсоры [Малышев В.В., Писляков А.В., 2001]. Указанные сенсоры представляют собой многослойную структуру, состоящую из полупроводникового газочувствительного слоя (собственно сенсора), диэлектрической подложки из оксида алюминия и слоя нагревателя. При попадании сенсора в среду, содержащую газ-восстановитель, равновесная концентрация электронов в полупроводнике и его проводимость увеличиваются, в среде с газом-окислителем концентрация электронов в полупроводнике и его проводимость уменьшаются.

Были изготовлены сенсоры четырех типов на основе диоксида олова, различающихся количеством каталитических добавок платины и палладия (таблица 3.8).

Таблица 3.8 – Характеристики полупроводниковых резистивных сенсоров

Сенсоры	Тип	Рабочая температура сенсора, °С	Избирательность к группам веществ	Избирательность к виду веществ
Сенсор 1	Тип 1	450	алканы	Горючие газы
Сенсор 2	Тип 2	450	окислители, короткоцепочечные карбоновые кислоты	Сильные окислители и восстановители
Сенсор 3	Тип 3	350	спирты, окислители	Летучие органические вещества
Сенсор 4		450	аммиак, спирты	
Сенсор 5	Тип 4	450	ацетон и кетоновые тела	Слабые окислители и восстановители

Примененные сенсоры имели чувствительность к алканам, летучим жирным кислотам, спиртам, аммиаку, ацетону. Постоянное присутствие этих газов в выдыхаемом воздухе обосновано с позиций клеточного и микробиомного

метаболизма и показано на практике в многочисленных работах. Соотношения этих газов в норме и при патологии отличаются [Bean H.D. et al., 2011; Zhu J. et al., 2010].

Сенсоры были вмонтированы в специальную газовую камеру, через которую прокачивался компрессором анализируемый воздух, и подключались к измерительному устройству. С помощью электронного измерительного устройства определяли сопротивление каждого сенсора при вводе в газовую камеру анализируемой пробы. Помимо этого, измерительное устройство поддерживало рабочую температуру сенсоров путем подачи стабилизированного напряжения на их нагревательные элементы. В целом устройство имело название «Мультисенс-5». Результаты измерений были зарегистрированы в относительных единицах. Анализ выдыхаемого воздуха выполнен у 132 человек, из них 105 человек были с диагнозом хронический тонзиллит и 27 человек группы контроля, у которых отсутствовали хронические воспалительные заболеваний ЛОР-органов, верхних и нижних дыхательных путей. Из 105 больных у 65 человек был хронический тонзиллит компенсированной формы, у 40 человек – декомпенсированной формы (ХДТ). При установлении диагноза были использованы положения классификации академика И.Б. Солдатова (1990).

Все испытуемые были обследованы с использованием клинических и лабораторных методов диагностики, целью которых было убедиться в отсутствии следующих заболеваний:

- ЖКТ (язвенная болезнь, гастриты, гастродуодениты);
- дыхательных путей (риниты, ларингиты, синуситы, полипоз; злокачественные и доброкачественные новообразования);
- ротовой полости (гингивит, пародонтоз, стоматит, кариес).

Регистрировалось наличие вредных привычек (курения, употребления спиртных напитков).

Перед анализом выдыхаемого воздуха обследуемые соблюдали следующие правила:

1. Не принимали (не употребляли) перед обследованием:

- антибиотики – за две недели;
- лекарственные формы с содержанием противовоспалительных средств, а также аэрозоли антисептических веществ для нанесения на слизистые оболочки – за двое суток;

- напитки крепкие спиртные – за двое суток;
- жевательную резинку и леденцы – за три часа.

2. Не курили за 4 часа до обследования.

3. Тщательно полоскали рот теплой водой (использование зубной пасты и растворов для полоскания исключалось).

Перед каждым измерением выдыхаемого воздуха и сразу после него в течение 5 минут через газовую камеру прокачивали окружающий воздух, чтобы установить уровень фона. Затем обследуемый помещал в ротовую полость одноразовый стерильный мундштук так, чтобы он не касался языка или нёба. Второй конец мундштука был соединен гибким силиконовым воздуховодом с газовой камерой. Воздух из ротовой полости прокачивали через газовую камеру в течение нескольких минут до установления постоянных показаний. Во время отбора пробы воздуха пациенты свободно, без усилия совершали вдох через нос и выдох через рот. Рот пациента на протяжении всего обследования был приоткрыт. Врач следил за тем, чтобы в мундштук не попадала слюна. При накапливании слюны в полости рта обследуемому разрешалось ее глотать.

Анализ выдыхаемого воздуха у больных хроническим компенсированным тонзиллитом

При исследовании выдыхаемого воздуха у больных хроническим компенсированным тонзиллитом и в группе контроля получены результаты, представленные в таблице 3.9.

Таблица 3.9 – Отличия показаний полупроводниковых резистивных сенсоров у больных хроническим тонзиллитом компенсированной формы и в группе контроля, отн. ед.

Сенсоры	Больные ХКТ, n=65	Статистическая значимость различий, t	Контрольная группа, n=27
1 – алканы	76,3±5,1	p<0,05	52,2±8,4
2 – ЛЖК	127,2±14,1	p<0,05	67,5±8,5
3 – спирты	60,2±7,3	p<0,05	12,3±1,9
4 – аммиак	51,2±6,1	p<0,05	12,5±2,6
5 – ацетон	6,3±1,3	p<0,05	1,7±2,6

Анализ полученных результатов показывает, что уровни сигналов всех пяти сенсоров у больных хроническим тонзиллитом компенсированной формы статистически значимо превышал таковые в группе контроля (p<0,05). Отличия показаний представлены графически на рисунке 3.1.

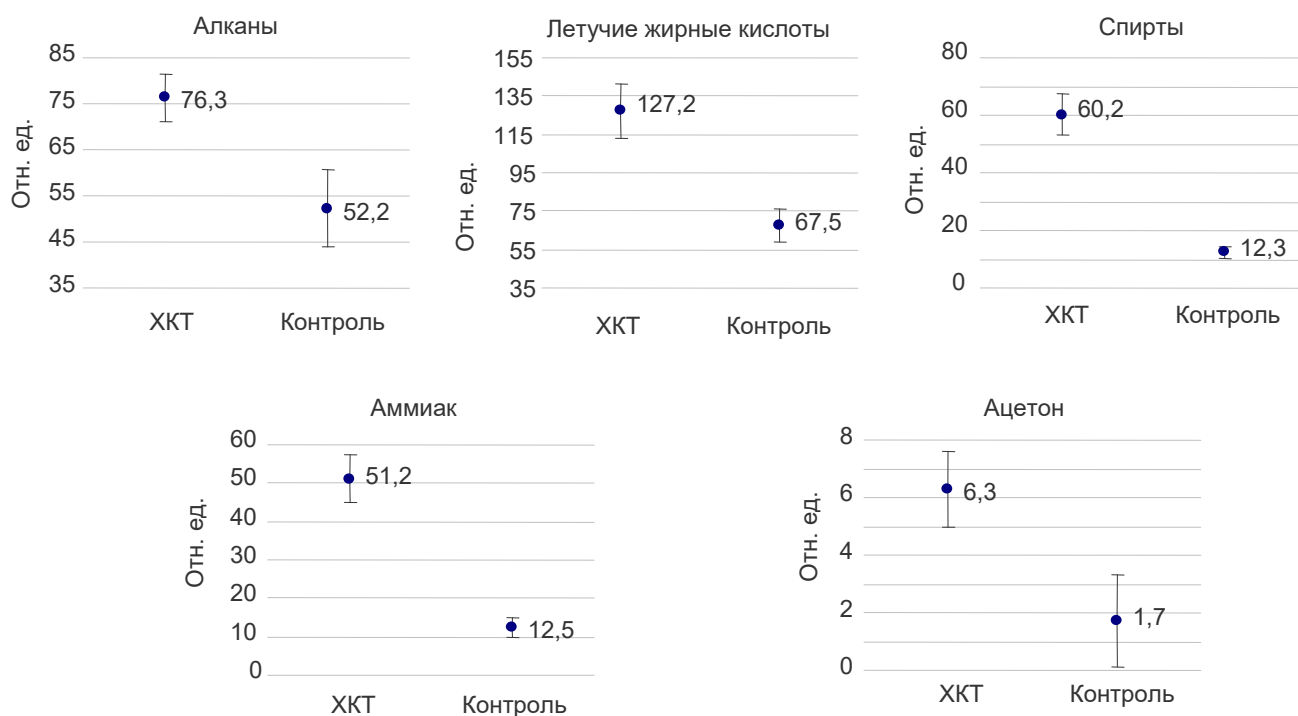


Рисунок 3.1 – Уровни летучих веществ в выдыхаемом воздухе больных хроническим компенсированным тонзиллитом (ХКТ) и в контрольной группе.

В результате различия между больными и группой контроля были статистически значимыми ($p < 0,05$) по сенсорам 1 (алканы), 2 (летучие жирные кислоты), 3 (спирты), 4 (аммиак) и 5 (ацетон) (рисунок 3.2).

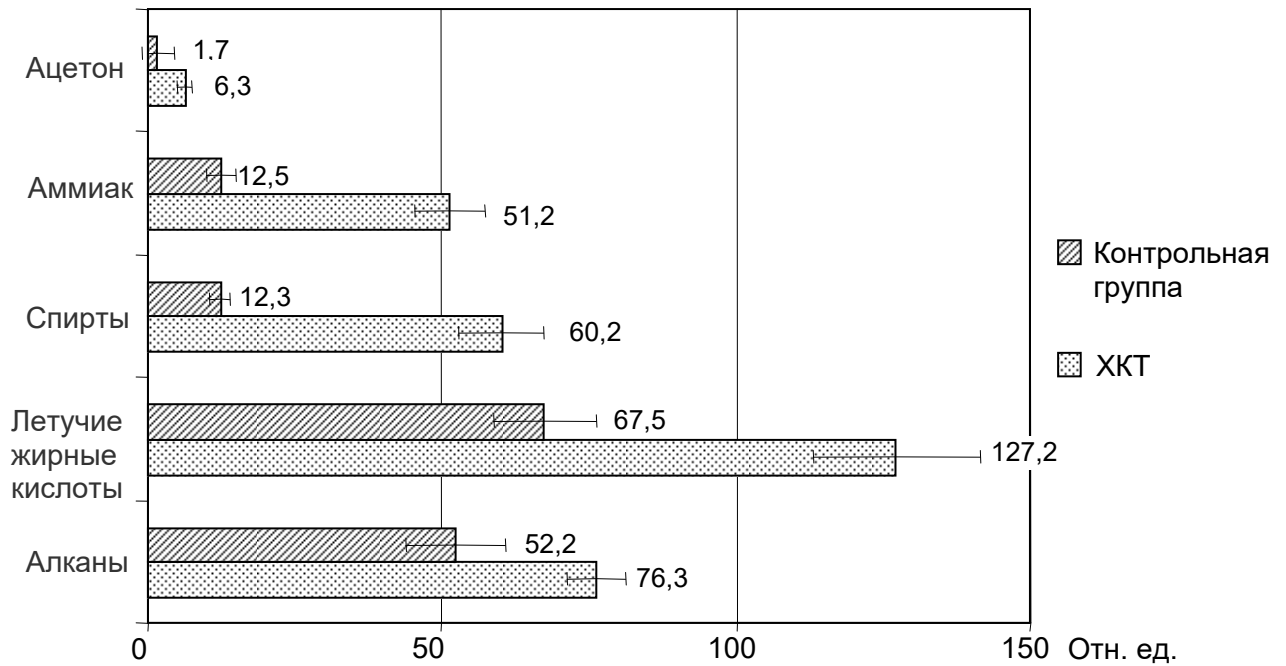


Рисунок 3.2 – Профили сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров у больных хроническим компенсированным тонзиллитом и в группе контроля.

Наибольший уровень сигнала между сенсорами получен по сенсору 2 (летучие жирные кислоты) как у больных хроническим компенсированным тонзиллитом ($127,2 \pm 14,1$ отн. ед.), так и в группе контроля ($67,5 \pm 8,5$ отн. ед.), поэтому можно судить о преобладании данной группы веществ в выдыхаемом воздухе больных. Показания сенсоров 1 (алканы), 3 (спирты), 4 (аммиак) и 5 (ацетон) также преобладали у больных хроническим компенсированным тонзиллитом по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о повышении в выдыхаемом воздухе содержания летучих веществ - предельных углеводородов, спиртов, летучих аминов и аммиака, ацетона и кетоновых тел), к которым чувствительны указанные сенсоры. Эти данные позволяют предположить, что метаболомный анализ выдыхаемого воздуха позволяет

отличать больных хроническим компенсированным тонзиллитом от людей без патологии небных миндалин.

Анализ выдыхаемого воздуха у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом

При исследовании выдыхаемого воздуха у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом и в группе контроля получены результаты, представленные в таблице 3.10 и на рисунке 3.3.

Анализ результатов выполненных исследований (таблица 3.10) показал, что уровни сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом в целом значительно выше, чем в группе контроля.

Таблица 3.10 – Отличия показаний полупроводниковых резистивных сенсоров у больных хроническим тонзиллитом декомпенсированной формы и в группе контроля, отн. ед.

Сенсоры	Больные ХДТ, n=40	Статистическая значимость различий, t	Контрольная группа, n=27
1 – алканы	57,2±8,4	p>0,05	52,2±8,4
2 – ЛЖК	95,0±20,9	p<0,05	67,5±8,5
3 – спирты	18,3±5,4	p<0,05	12,3±1,9
4 – аммиак	21,8±6,5	p<0,05	12,5±2,6
5 – ацетон	2,5±1,4	p<0,05	1,7±2,6

Отличия показаний представлены графически на рисунке 3.3.

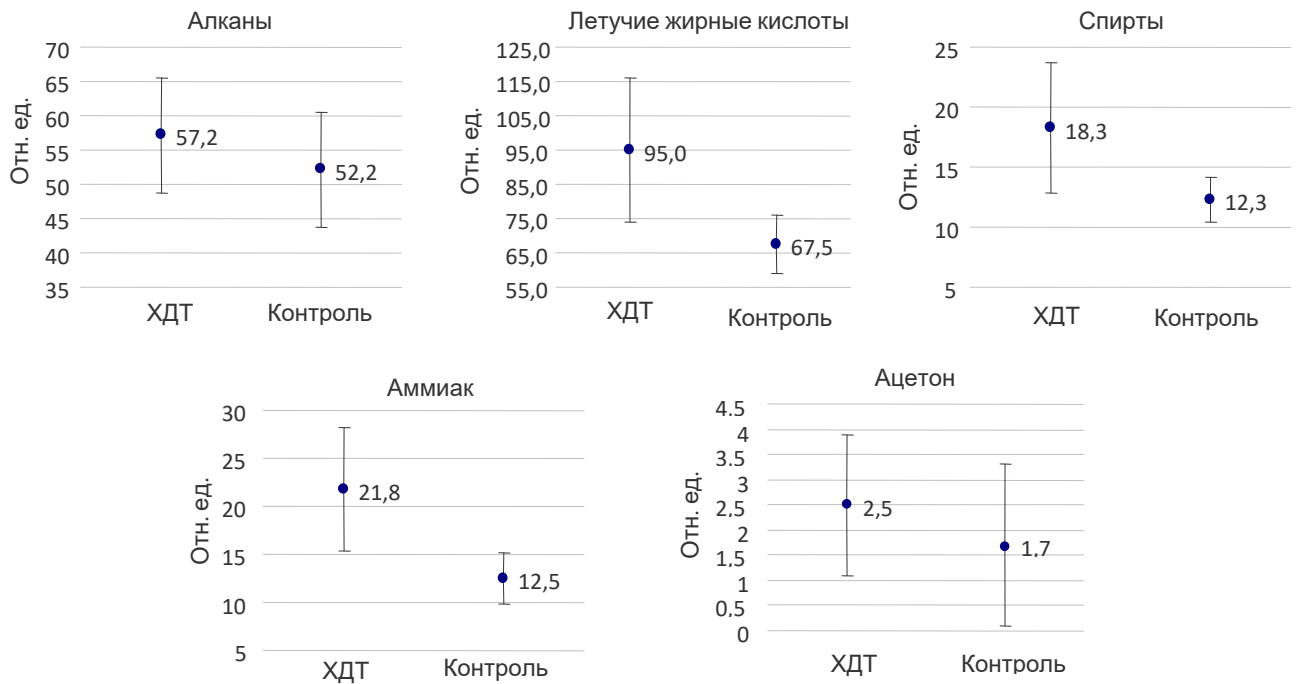


Рисунок 3.3 – Уровни летучих веществ в выдыхаемом воздухе больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом (ХДТ) и в контрольной группе.

Между больными хроническим декомпенсированным тонзиллитом (ХДТ) и контрольной группой выявлены статистически значимые различия ($p < 0,05$) по содержанию летучих жирных кислот, спиртов и аммиака.

Сравнение значений сигналов, полученных от полупроводниковых резистивных сенсоров у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом и в группе контроля, показало, что соотношения уровней сигналов внутри группы существенно не отличались от таковых между группами (рисунок 3.4).

Профили спектров сигналов сенсоров в обеих группах оказались схожими между собой, однако уровни сигналов у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом были выше, чем в группе контроля, что свидетельствует о более высоком содержании определяемых веществ в выдыхаемом воздухе.

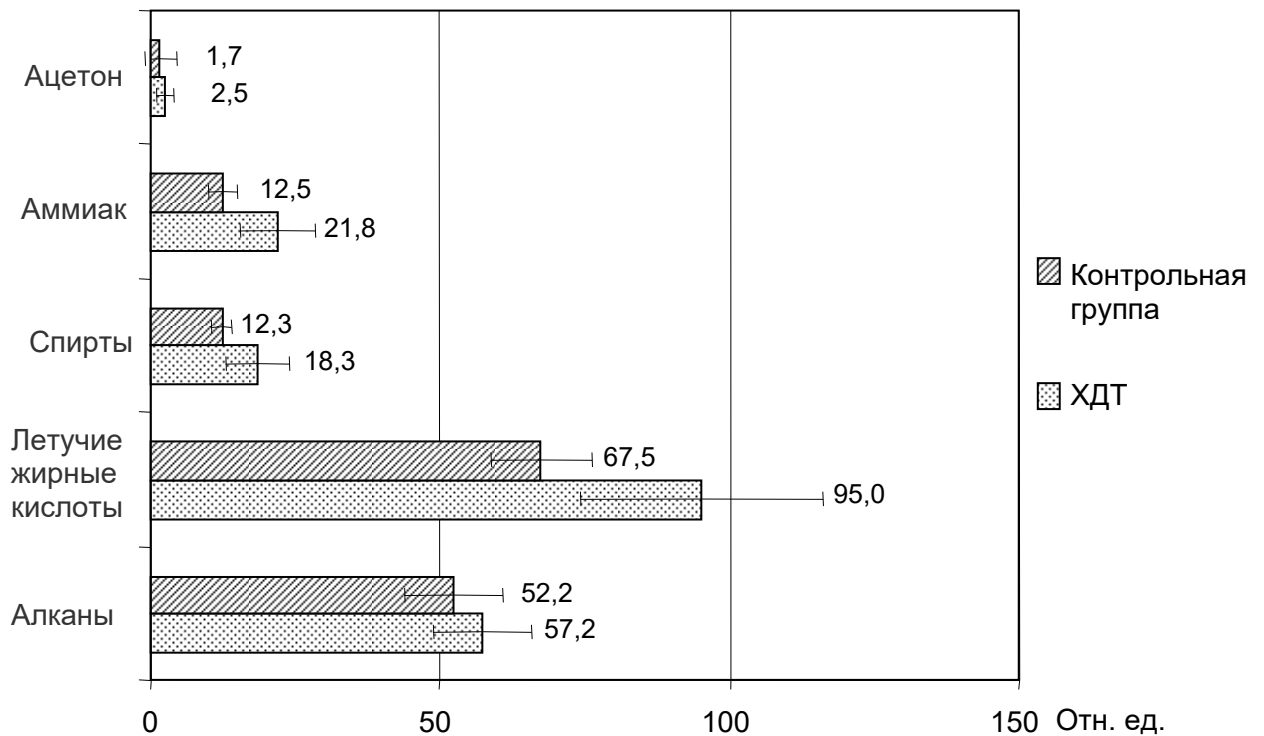


Рисунок 3.4 – Уровни сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом и в группе контроля.

Наибольшее отличие уровней сигналов между больными и группой контроля определено по полупроводниковому резистивному сенсору 2, который чувствителен к летучим жирным кислотам (ЛЖК). Эти данные позволяют предположить, что в выдыхаемом воздухе больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом повышена концентрация ЛЖК, а также спиртов и аммиака, определенных сенсорами 3 и 4, хотя и в значительно меньшей степени.

Анализ результатов исследования выдыхаемого воздуха у больных с хроническим тонзиллитом компенсированной и декомпенсированной формы

При сопоставлении результатов метаболомного анализа выдыхаемого воздуха у больных с компенсированной и декомпенсированной формами хронического тонзиллита и в группе контроля получены данные, представленные в таблице 3.11.

Таблица 3.11 – Уровни сигналов сенсоров при исследовании выдыхаемого воздуха у больных хроническим тонзиллитом компенсированной формы и декомпенсированной формы, отн. ед.

Сенсор	Больные ХКТ, n=65	Статистическая значимость различий, t	Больные ХДТ, n=40
1 – алканы	76,3±5,1	p>0,05	57,2±8,4
2 – ЛЖК	127,2±14,1	p<0,05	95,0±20,9
3 – спирты	60,2±7,3	p<0,05	18,3±5,4
4 – аммиак	51,2±6,1	p<0,05	21,8±6,5
5 – ацетон	6,3±1,3	p<0,05	2,5±1,4

Из данных таблицы 3.11 следует, что средние значения сигналов сенсоров в группе больных хроническим компенсированным и декомпенсированным тонзиллитом заметно превышают таковые в группе контроля.

Отличия показаний представлены графически на рисунке 3.5.

Между группами больных хроническим компенсированным тонзиллитом и хроническим декомпенсированным тонзиллитом выявлены различия по всем пяти сенсорам (p<0,05). При этом средние значения сигналов сенсоров в группе больных хроническим компенсированным тонзиллитом превышают таковые в группе хроническим декомпенсированным тонзиллитом.

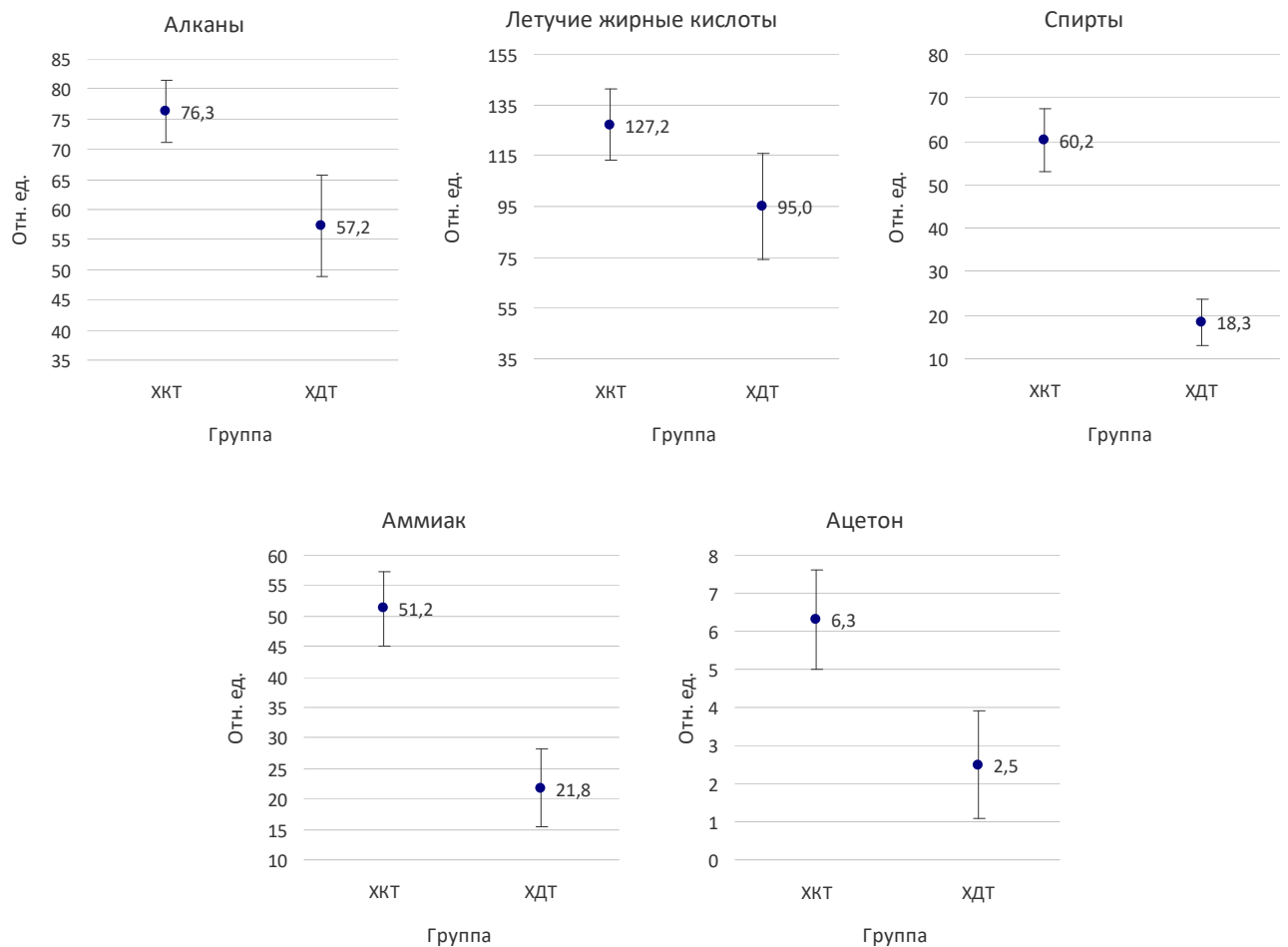


Рисунок 3.5 – Уровни летучих соединений в выдыхаемом воздухе больных ХТ компенсированной и декомпенсированной формы.

Профили спектров газообразных веществ в выдыхаемом воздухе, полученных у больных хроническим компенсированным тонзиллитом и хроническим декомпенсированным тонзиллитом, представлены на рисунке 3.6.

Профили спектров в группах оказались схожи между собой. Максимальное значение уровня сигнала получено по сенсору 2 (летучие жирные кислоты) у больных хроническим тонзиллитом обеих групп. Сенсор 2 чувствителен к летучим жирным кислотам, уровень которых был наибольшим в выдыхаемом воздухе у больных хроническим тонзиллитом по сравнению с другими газообразными веществами, определяемыми сенсорами 1 (алканы), 3 (спирты), 4 (аммиак), 5 (ацетон).

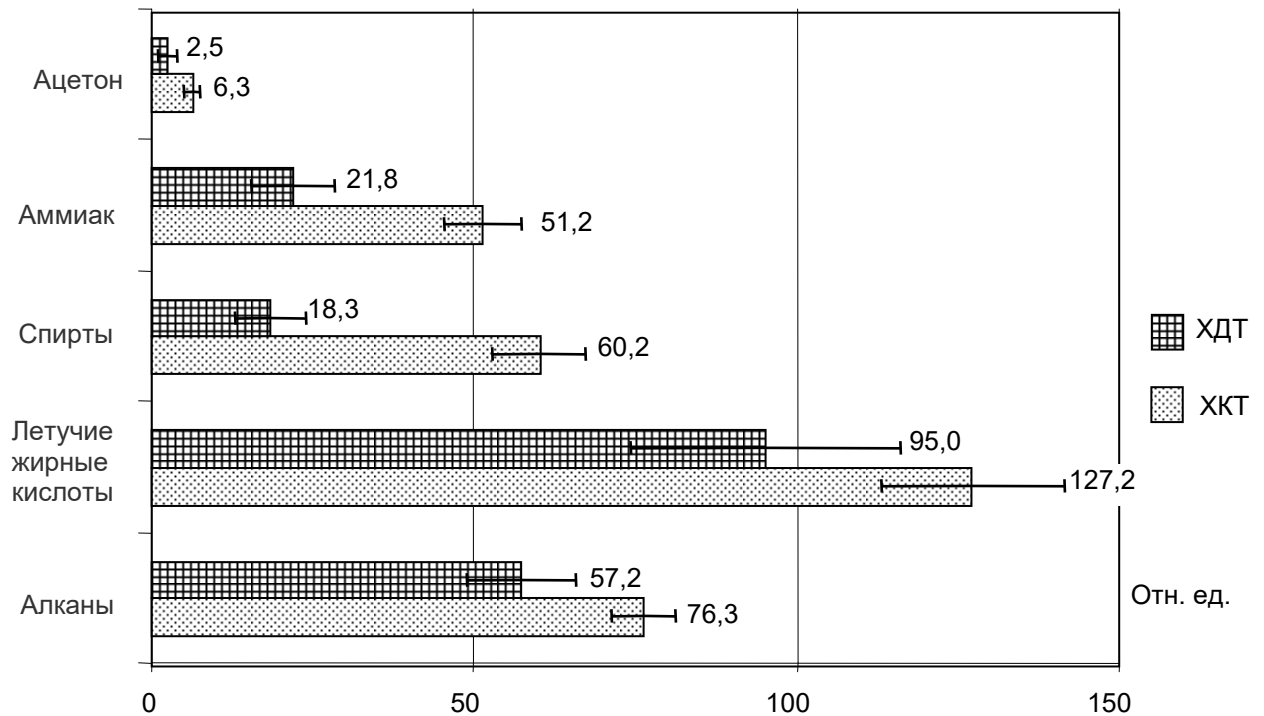


Рисунок 3.6 – Показания резистивных сенсоров при анализе выдыхаемого воздуха у больных хроническим тонзиллитом компенсированной и декомпенсированной формы.

С целью сопоставить полученные различия в группах больных со значениями в контрольной группе массив данных был обработан методом главных компонент. На рисунке 3.7 показан график счетов, а на рисунке 3.8 график нагрузок для первых двух главных компонент, которые описывают 96% объясненной дисперсии.

На графике счетов первых двух главных компонент (рисунок 3.7) видно статистически значимое разделение между областями данных в группах пациентов хроническим компенсированным тонзиллитом, хроническим декомпенсированным тонзиллитом и группе контроля.

На графике нагрузок (рисунок 3.8) видно большое влияние сенсоров 1 (алканы), 2 (летучие жирные кислоты) и 4 (аммиак) на обе главные компоненты. Влияние сенсора 5 (ацетон) меньше, а сенсор 3 (спирты) имеет одинаковые веса с сенсором 4 (аммиак), таким образом сенсоры 3 (спирты) и 4 (аммиак)

коллинеарны. Это объяснимо тем, что оба сенсора были одного типа и отличались только рабочей температурой.

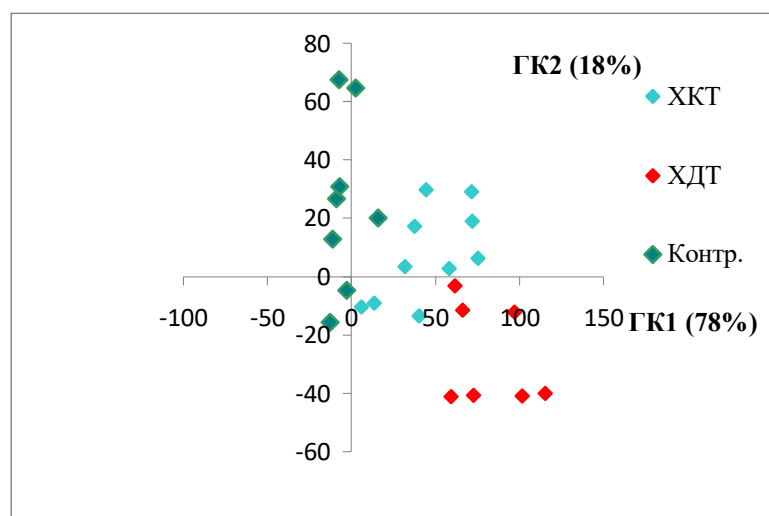


Рисунок 3.7 – График счетов по методу главных компонент.

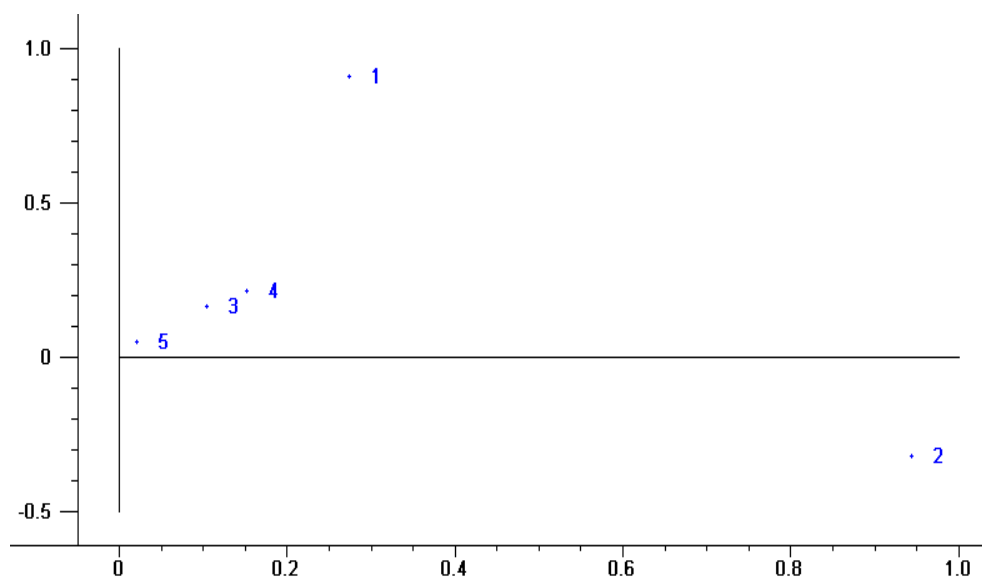


Рисунок 3.8 – График нагрузок для первых двух главных компонент, которые описывают 96% объясненной дисперсии.

Таким образом, информативными являются сенсоры 1 (алканы) , 2 (летучие жирные кислоты) и 4 (аммиак), которые могут быть применены для дифференциальной диагностики форм хронического тонзиллита.

***Динамика изменения показателей выдыхаемого воздуха у больных
хроническим тонзиллитом после проведенного лечения***

Целью следующего этапа настоящей работы было определение роли небных миндалин как источника летучих веществ, меняющих газовый состав выдыхаемого воздуха, а также изучение влияния лечения больных хроническим тонзиллитом на выдыхаемый воздух. Для этого было выполнено обследование больных хроническим тонзиллитом после консервативного и оперативного лечения (тонзиллэктомии). Консервативное лечение проводилось больным с компенсированной формой тонзиллита, а оперативное – с декомпенсированной формой.

Консервативное лечение заключалось в механическом промывании лакун небных миндалин растворами антисептиков и настоем чистотела, в индивидуальном назначении иммуномодуляторов, витаминов, антигистаминных препаратов и применении физиотерапевтических методов. Прием антибактериальных препаратов назначался в случаях высева патогенной микрофлоры в смывах из крипт небных миндалин. Длительность курса консервативного лечения составляла 2 недели.

В результате проведенного лечения было зарегистрировано улучшение клинической картины: отсутствие жалоб, положительная динамика объективных данных (устранение гиперемии и отечности дужек, уменьшение размеров небных миндалин и регионарного лимфаденита, освобождение лакун небных миндалин от гнойного и казеозного содержимого).

Анализ выдыхаемого воздуха у больных хроническим компенсированным тонзиллитом был выполнен перед началом лечения и спустя 1 неделю после окончания лечения. Результаты исследования представлены в таблице 3.12 и на рисунке 3.9.

Таблица 3.12 – Уровни сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров у больных хроническим компенсированным тонзиллитом (n=21) до и после консервативного лечения, отн. ед.

Сенсоры	До лечения	Статистическая значимость различий, t	Через 2 нед. после лечения
1 – алканы	78,2±13,8	p<0,05	55,6±9,2
2 – ЛЖК	109,2±30,5	p<0,05	80,1±18,6
3 – спирты	62,1±5,0	p<0,05	41,2±10,6
4 – аммиак	49,5±6,0	p<0,05	24,5±7,2
5 – ацетон	4,9±1,0	p<0,05	2,5±1,5

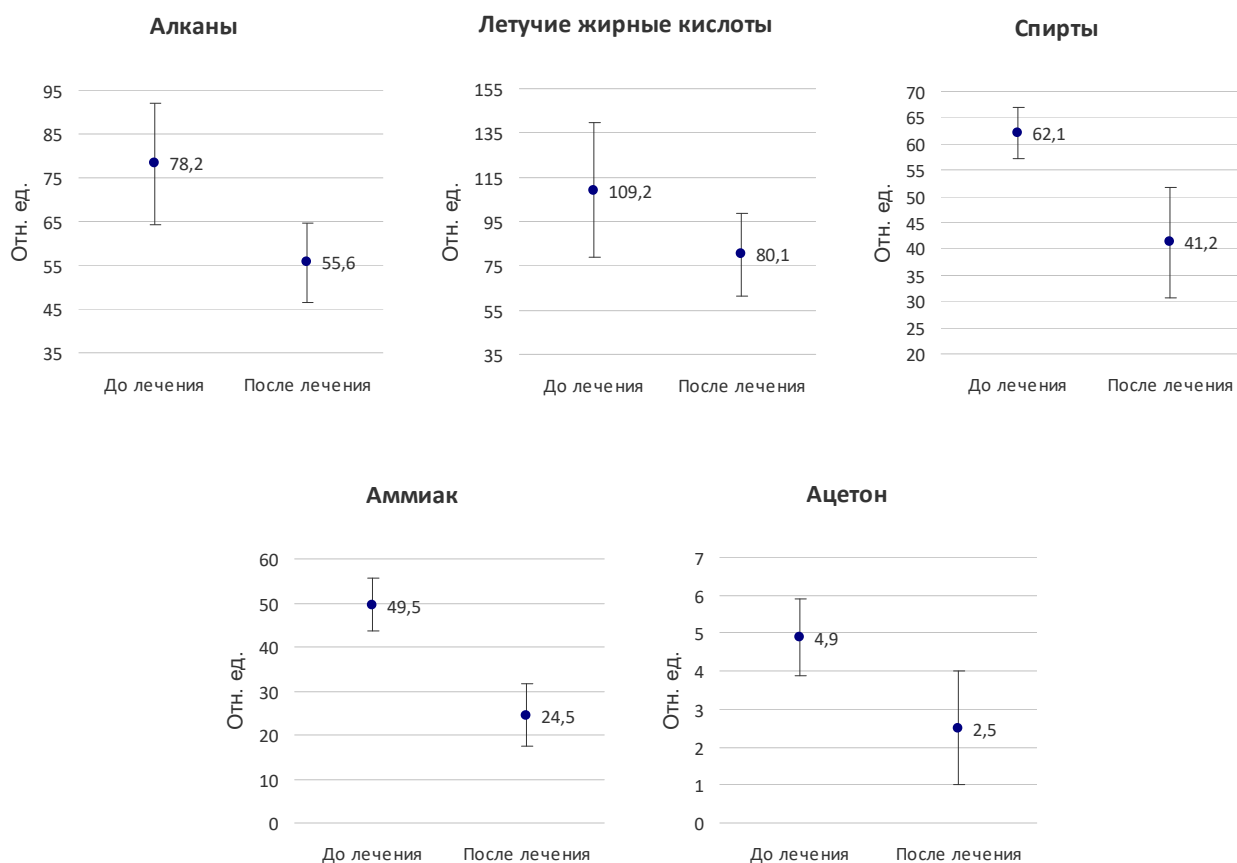


Рисунок 3.9 – Уровни летучих веществ в выдыхаемом воздухе у больных хроническим компенсированным тонзиллитом до и после консервативного лечения.

В итоге после проведенного лечения и на фоне положительной динамики клинической картины заболевания у больных хроническим тонзиллитом компенсированной формы выявлено статистически значимое ($p<0,05$) уменьшение уровней сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров 1 (алканы), 3 (спирты), 4 (аммиак) и 5 (ацетон).

Выполнено также сравнение результатов анализа выдыхаемого воздуха у больных хроническим компенсированным тонзиллитом после лечения и в группе контроля. Результаты исследований приведены в таблице 3.13 и рисунке 3.10.

Полученные данные свидетельствуют, что уровни сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров у больных хроническим компенсированным тонзиллитом после лечения превышают таковые в группе контроля, однако средние значения сенсора 1 (алканы) являются близкими ($p>0,05$). Среднее значение показаний полупроводникового резистивного сенсора 2 (летучие жирные кислоты) у больных хроническим компенсированным тонзиллитом после лечения было существенно выше такового в группе контроля, однако эти отличия не были статистически значимыми ($p>0,05$).

Таблица 3.13 – Результаты анализа выдыхаемого воздуха у больных хроническим тонзиллитом компенсированной формы через 1 нед. после лечения ($n=21$) и в группе контроля, отн. ед.

Сенсоры	Больные ХКТ после лечения	Статистическая значимость различий, t	Контрольная группа
1 – алканы	55,6±9,2	$p>0,05$	52,2±8,4
2 – ЛЖК	80,1±18,6	$p<0,05$	67,5±8,5
3 – спирты	41,2±10,6	$p<0,05$	12,3±1,9
4 – аммиак	24,5±7,2	$p<0,05$	12,5±2,6
5 – ацетон	2,5±1,5	$p>0,05$	1,7±2,6

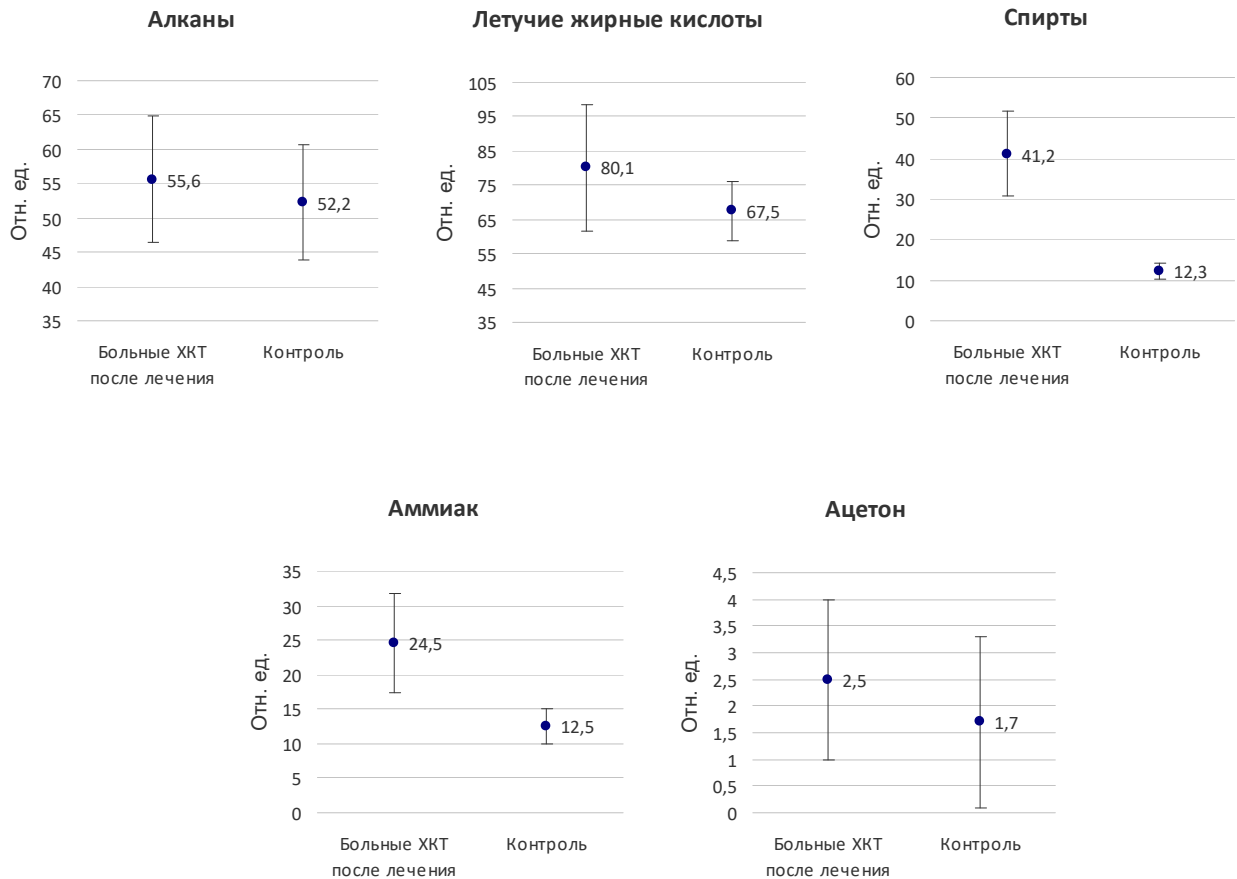


Рисунок 3.10 – Уровни летучих веществ в выдыхаемом воздухе у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом и в группе контроля.

Средние значения сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров 3 (спирты) и 4 (аммиак) у больных хроническим компенсированным тонзиллитом после лечения статистически значимо превышали таковые в группе контроля ($p < 0,05$). Показания полупроводникового резистивного сенсора 5 (ацетон) в группе больных хроническим компенсированным тонзиллитом после лечения были больше такового в группе контроля, однако выявленные отличия не были статистически значимыми ($p > 0,05$).

Несмотря на то, что в целом у больных хроническим компенсированным тонзиллитом после лечения зарегистрированы уровни сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров более высокие, чем в группе контроля людей, статистически значимые различия ($p < 0,05$) выявлены только в показаниях полупроводниковых резистивных сенсоров 3 (спирты) и 4 (аммиак). По

остальным сенсорам 1 (алканы), 2 (летучие жирные кислоты) и 5 (ацетон) статистически значимых различий не выявлено ($p>0,05$). Такие результаты свидетельствуют о приближении состава выдыхаемого воздуха у больных хроническим компенсированным тонзиллитом к таковому в группе контроля (рисунок 3.11).

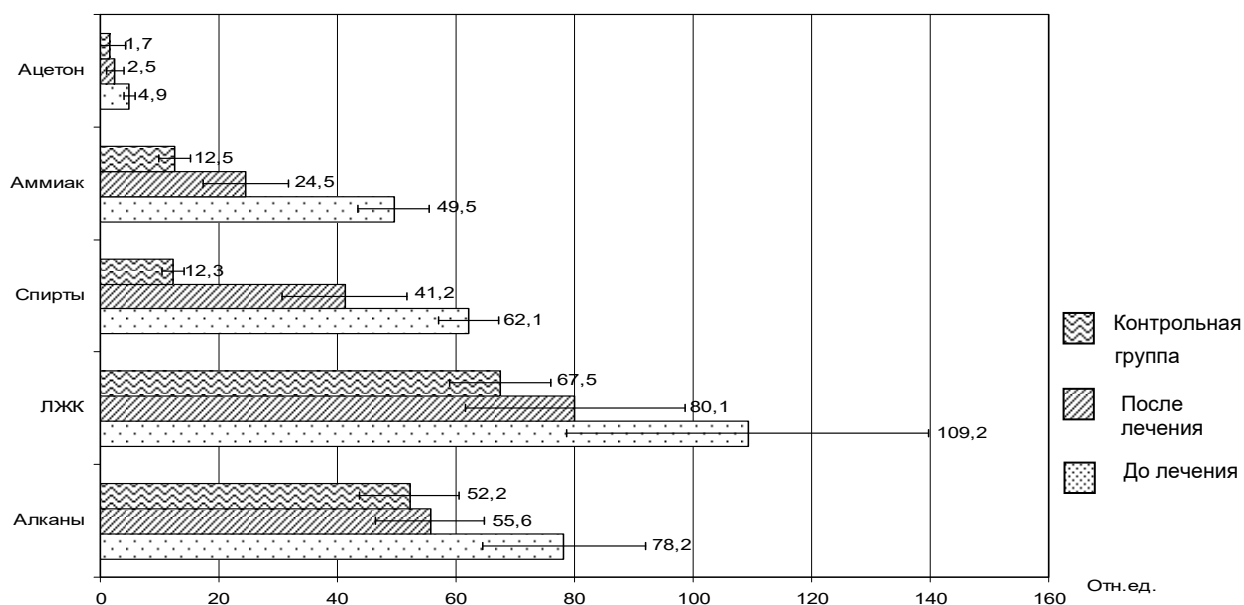


Рисунок 3.11 – Уровни сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров у больных с компенсированной формой хронического тонзиллита в динамике лечения и в группе контроля.

Таким образом, применение анализа выдыхаемого воздуха с помощью технологии «электронный нос» позволяет проводить оценку динамики клинической картины заболевания и эффективности проведенной терапии.

В случаях оперативного вмешательства было выполнено исследование выдыхаемого воздуха у больных хроническим тонзиллитом до операции (тонзиллэктомии) и через 1 месяц после нее, когда была зафиксирована полная эпителизация операционной раны. Результаты исследований представлены в таблице 3.14 и рисунке 3.12.

Таблица 3.14 – Уровни сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом (n=35) до и после оперативного лечения, отн. Ед.

Сенсоры	До тонзиллэктомии	Статистическая значимость различий, t	Через 1 мес. после тонзиллэктомии
1 – алканы	69,6±12,9	p<0,05	24,7±6,5
2 – ЛЖК	85,6±37,2	p>0,05	50,7±13,2
3 – спирты	25,8±10,9	p<0,05	10,6±3,3
4 – аммиак	26,5±7,5	p<0,05	10,4±3,6
5 – ацетон	5,2±2,1	p<0,05	1,6±1,6

Как и после консервативного лечения больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом у пациентов с декомпенсированной формой хронического тонзиллита после оперативного лечения (тонзиллэктомия) выявлено снижение уровней сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров. Указанные изменения имели статистическую значимость по четырем сенсорам из пяти: 1 (алканы), 3 (спирты), 4 (аммиак) и 5 (ацетон) (p<0,05).

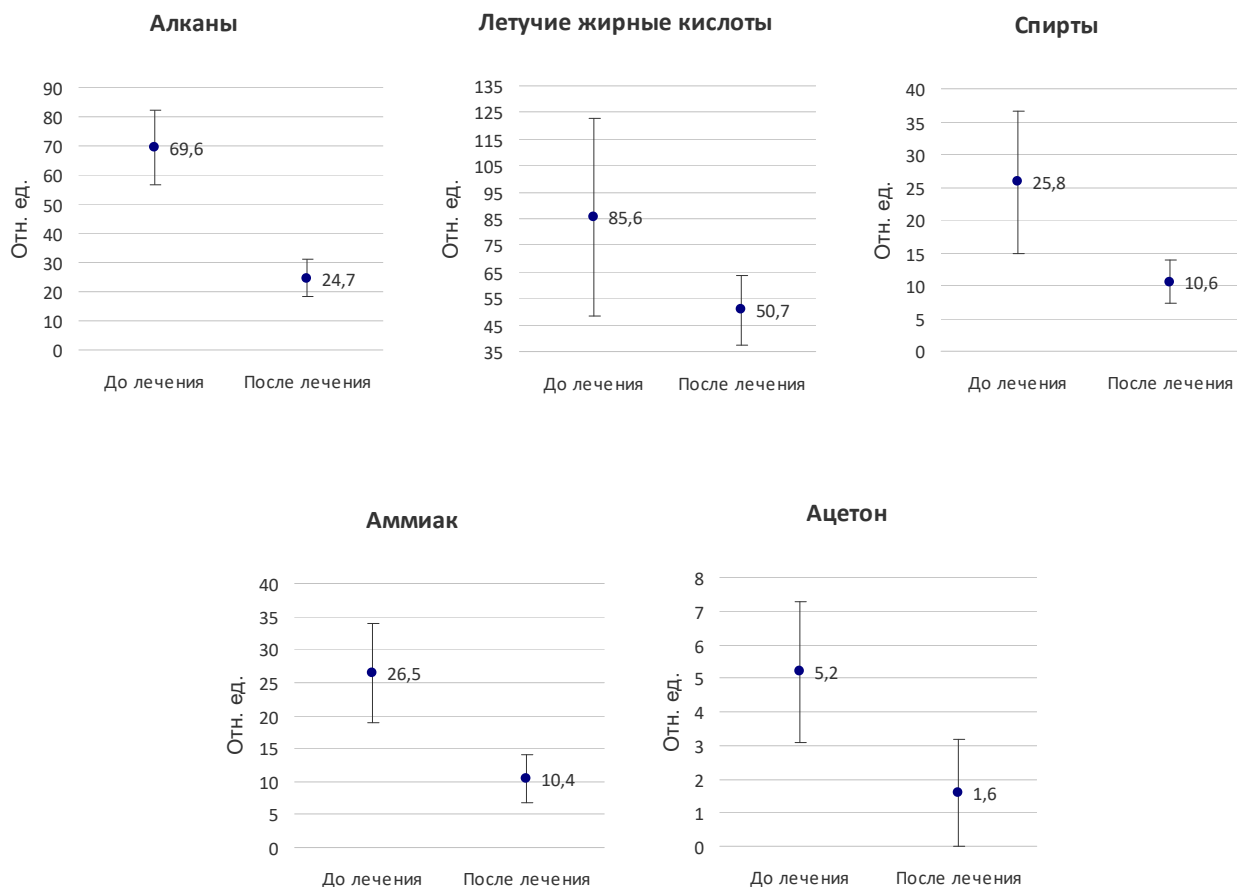


Рисунок 3.12 – Уровни летучих веществ в выдыхаемом воздухе у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом до и после оперативного лечения.

Выполнено также сравнение результатов анализа выдыхаемого воздуха у больных с хроническим декомпенсированным тонзиллитом после оперативного лечения и в группе контроля. Результаты исследований приведены в таблице 3.15 и на рисунке 3.13.

Таблица 3.15 – Уровни сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом через 1 мес после оперативного лечения (n=35) и в группе контроля, отн. ед.

Сенсоры	Больные ХДТ после тонзиллэктомии	Статистическая значимость различий, t	Контрольная группа
1 – алканы	24,7±6,5	p<0,05	52,2±8,4
2 – ЛЖК	50,7±13,2	p>0,05	67,5±8,5
3 – спирты	10,6±3,3	p>0,05	12,3±1,9
4 – аммиак	10,4±3,6	p>0,05	12,5±2,6
5 – ацетон	1,6±1,6	p>0,05	1,7±2,6

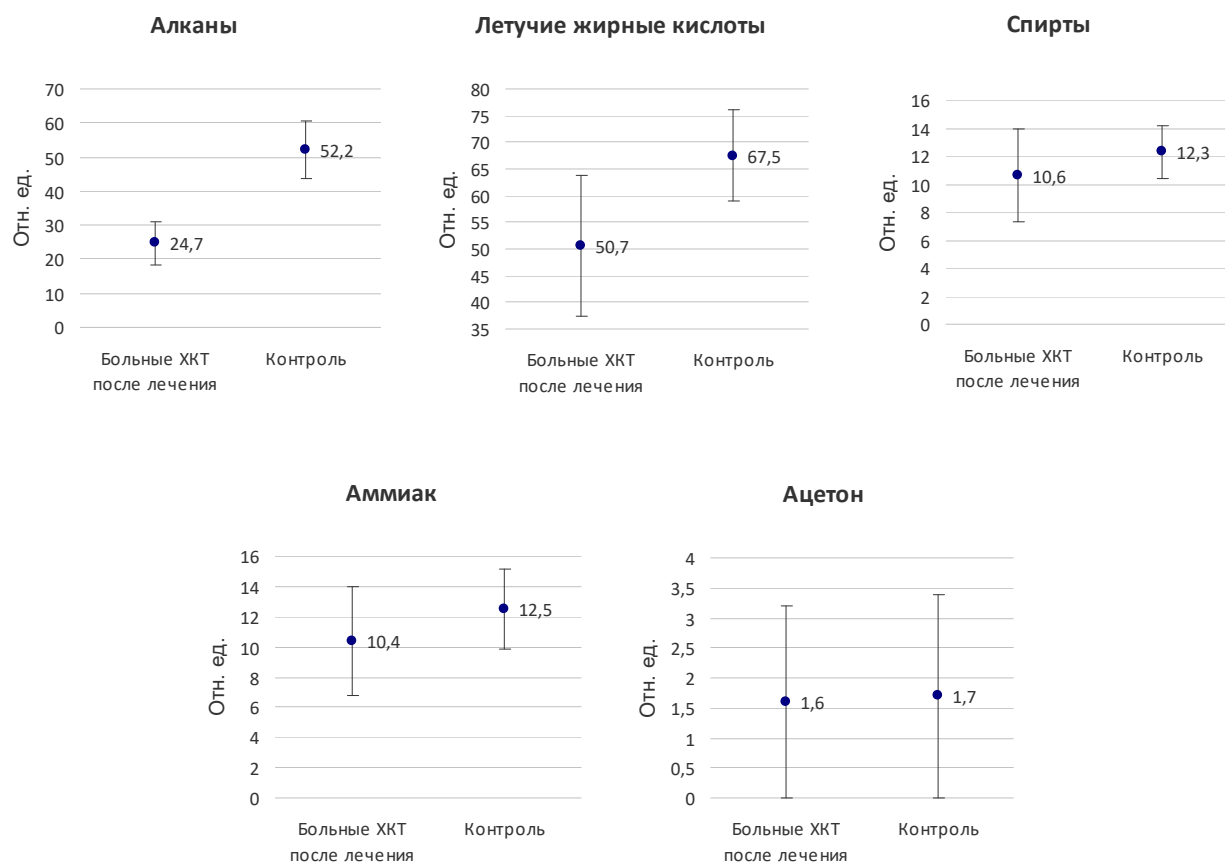


Рисунок 3.13 – Уровни сигналов полупроводникового резистивного сенсора 1 (алканы) у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом после лечения и в группе контроля.

Среднее значение показаний полупроводникового резистивного сенсора 1 (алканы) у больных хроническим компенсированным тонзиллитом после лечения стало статистически значимо ниже такового в группе контроля ($p < 0,05$). Среднее значение показаний полупроводникового резистивного сенсора 2 (летучие жирные кислоты) у больных хроническим компенсированным тонзиллитом после лечения было существенно ниже такового в группе контроля, однако эти отличия не были статистически значимыми ($p > 0,05$).

Средние значения сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров 3 (спирты) и 4 (аммиак) у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом после лечения стали ниже, чем в группе контроля, однако эти отличия не были статистически значимыми ($p > 0,05$). Показания полупроводникового резистивного сенсора 5 (ацетон) в группе больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом после лечения практически сравнялись с уровнем в группе контроля, отличия не были статистически значимыми ($p > 0,05$).

В целом у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом после лечения зарегистрированы уровни сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров более низкие, чем в группе контроля. При этом статистически значимые различия ($p < 0,05$) выявлены только в показаниях полупроводникового резистивного сенсора 1 (алканы). По остальным сенсорам статистически значимых различий не выявлено ($p > 0,05$). Такие результаты показывают, что состав выдыхаемого воздуха у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом после оперативного лечения стал практически идентичным таковым в группе контроля, за исключением содержания алканов (рисунок 3.14).

Таким образом, после удаления небных миндалин, являющихся локальным очагом хронического воспаления и инфекции, изменяется состав выдыхаемого воздуха у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом. Уровни газообразных компонентов выдыхаемого воздуха больных снизились и стали схожими с таковыми в группе контроля. Данные факты подтверждают влияние патологических процессов в небных миндалинах на повышение содержания

летучих компонентов в выдыхаемом воздухе, которое отличает больных хроническим тонзиллитом от людей без патологии небных миндалин.

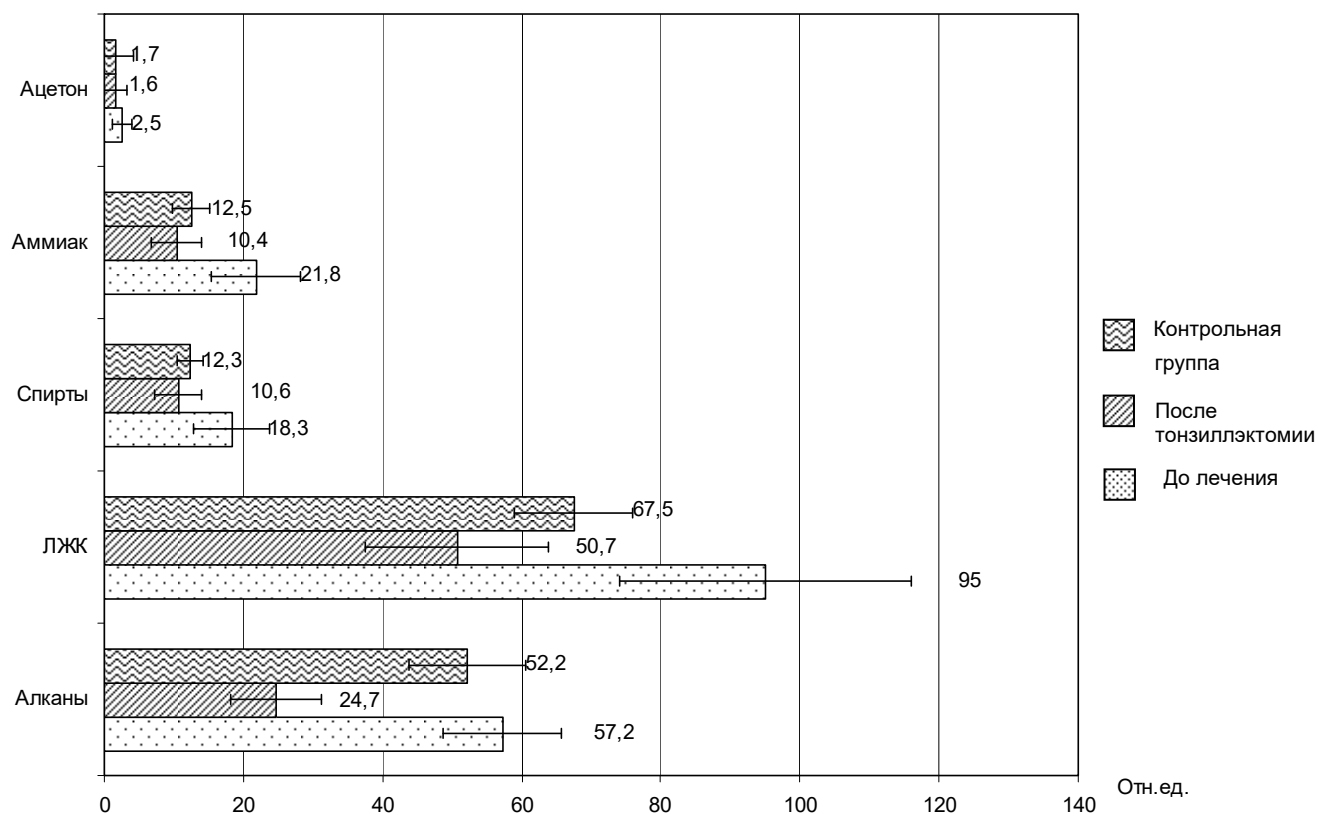


Рисунок 3.14 – Профили сигналов полупроводниковых резистивных сенсоров у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом в динамике лечения и в группе контроля.

ГЛАВА 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИПИДНОГО ОБМЕНА И МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ СТРУКТУР ТВЕРДОЙ ФАЗЫ РЕГИОНАРНЫХ ВНЕШНИХ СЕКРЕТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГНОЙНОМ СРЕДНЕМ ОТИТЕ У ВЗРОСЛЫХ

4.1. Исследование обмена липидов

4.1.1. Липидный профиль крови

Результаты изучения липидного спектра крови у больных ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой и без нее приведены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Липидный профиль крови у больных ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой (n=25) и без холестеатомы (n=22), $M \pm m$

Аналит	холестеатома	Статистическая значимость различий, t	без холестеатомы
Общий холестерин, ммоль/л	$5,02 \pm 0,191$	$p > 0,05$	$5,49 \pm 0,192$
Триглицериды, г/л	$0,882 \pm 0,078$	$p > 0,05$	$1,05 \pm 0,116$
ЛПВП (α -холестерин), ммоль/л	$1,31 \pm 0,058$	$p > 0,05$	$1,29 \pm 0,061$
ЛПНП, ммоль/л	$3,25 \pm 0,183$	$p > 0,05$	$3,65 \pm 0,176$
ЛПОНП, ммоль/л	$0,46 \pm 0,041$	$p > 0,05$	$0,546 \pm 0,060$
Коэффициент атерогенности (КА)	$2,97 \pm 0,21$	$p > 0,05$	$3,40 \pm 0,288$
Доля снижения ЛПВП, %	$86,0 \pm 3,54$	$p > 0,05$	$83,3 \pm 3,58$

Анализ данных, полученных при определении липидного профиля крови, показал, что статистически значимых различий параметров между группами больных ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой и без холестеатомы (мезотимпанит) не выявлено. Средние значения определенных показателей находились в диапазоне референсных значений, за исключением сниженного уровня липопротеидов высокой плотности. Несмотря на это, были случаи, когда у пациентов обеих групп наблюдались существенные отклонения в параметрах

липидного крови. Распределение больных по индивидуальным результатам исследований представлено в таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Распределение больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой (n=25) и без холестеатомы, мезотимпанит (n=22) по результатам анализа липидного профиля крови, %

Аналит		Диапазон желательных значений		Диапазон группы риска		Патологический уровень	
		Холестеатома	Мезотимпанит	Холестеатома	Мезотимпанит	Холестеатома	Мезотимпанит
Общий холестерин		68,0%	54,6%	24,0%	22,7%	8,0%	22,74%
ЛПНП		76,0%	72,7%	20,0%	18,2%	4,0%	9,1%
ЛПВП (α-холестерин)		20,0%	9,1%	72,0%	72,7%	8,0%	18,2%
Триглицериды		96,0%	91,0%	0%	4,5%	4,0%	4,5%
ЛПОНП		96,0%	91,0%	0%	4,5%	4,0%	4,5%
КА		48,0%	40,9%	32,0%	31,8%	20,0%	27,3%
Доля снижения ЛПВП, %	М	26,7%	18,2%	73,3%	63,6%	0%	18,2%
	Ж	10,0%	10,0%	70,0%	70,0%	20,0%	20,0%

Данные таблицы 4.2 показывают, что в единичных случаях выявлены повышенные значения параметров липидограммы (общего холестерина, триглицеридов, фракций ЛПНП и ЛПОНП). При этом частота патологических уровней общего холестерина и ЛПНП у пациентов без холестеатомы оказалась более чем в 2 раза выше (22,74% и 9,1% соответственно), чем у больных с холестеатомой (8,0% и 4,0% соответственно). Аналогичное соотношение

коснулось и частоты патологических значений ЛПВП: в группе с мезотимпанитом 18,2% против 8,0% в группе с холестеатомой. В обеих группах исследования уровни ЛПВП были отнесены к группе риска (72,0% и 72,7%).

Степень снижения уровня ЛПВП у женщин была равной в обеих группах исследования (70,0% и 70,0% в диапазоне группы риска, 20,0% и 20,0% при патологическом значении). У мужчин, больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой, уровни ЛПВП, находящиеся в диапазоне группы риска, встречались несколько чаще, чем в группе без холестеатомы (73,3% против 63,6% соответственно). Патологическое снижение уровней ЛПВП у больных с мезотимпанитом выявлено в 18,2% случаев, в то время как у больных с холестеатомой не обнаружено ни одного случая.

У больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой патологические значения показателей липидного обмена (общего холестерина, триглицеридов, фракций ЛПНП и ЛПОНП) обнаружены в небольшой доле случаев: от 4 до 8%. Уровни ЛПВП в крови большей части пациентов (72,0%) отнесены к диапазону группы риска, а к диапазону желательных значений – только 20,0%. Значения концентрации триглицеридов и ЛПОНП в крови у большей части пациентов с холестеатомой (96,0%) находятся в диапазоне желательных значений.

По результатам определения в крови уровней ЛПНП в группу риска отнесены только 20,0% больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой. При этом желательные значения коэффициента атерогенности обнаружены в 48,0% случаев. Данный факт обусловлен сниженным содержанием ЛПВП у большинства пациентов.

Общей характерной особенностью липидного профиля крови у больных ХГСО обеих групп (у 86,0% в группе с холестеатомой и у 83,3% в группе с мезотимпанитом) явилось статистически значимое понижение в крови содержания фракции ЛПВП, которая имеет антиатерогенное значение.

4.1.2. Результаты исследования липидов в регионарных внешних секретах

Результаты определения показателей липидного обмена в образцах слюны, полученных после транстимпанального нагнетания воздуха, и в отделяемом из слуховой трубы представлены в таблицах 4.3 – 4.7.

Таблица 4.3 – Общий холестерин в отделяемом из слуховой трубы у больных ХГСО, $M \pm m$

Аналит	ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой		ХГСО с мезотимпанитом		Контроль- ная группа, n=14
	ухо больное, n=17	ухо интактное, n=13	ухо больное, n=11	ухо интактное, n=10	
Общий холестерин, ммоль/л	0,35± 0,08	0,32±0,08	1,15±0,25	1,25±0,33	1,05±0,14
Уровни значимости различий общего холестерина в отделяемом из слуховой трубы больного уха					
Группы исследования		ХГСО с мезотимпанитом		Контрольная группа	
ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой		p<0,002		p<0,001	
ХГСО с мезотимпанитом				p>0,05	
Уровни значимости различий уровня общего холестерина в отделяемом из слуховой трубы интактного уха					
Группы исследования		ХГСО с мезотимпанитом		Контрольная группа	
ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой		p<0,005		p<0,001	
ХГСО с мезотимпанитом				p>0,05	

Исследование липидного спектра в отделяемом из слуховой трубы у больных ХГСО показало значительное снижение содержания общего холестерина у больных ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой по сравнению как с больными ХГСО без холестеатомы ($p<0,01$), так и с группой контроля ($p<0,01$). Примечательно, что эти отличия касались образцов из устья слуховой трубы как больного уха, так и интактного. Уровни липидов в отделяемом из слуховой трубы у больных ХГСО с мезотимпанитом и в группе контроля не имели статистически значимых различий ($p>0,05$).

В отделяемом из слуховой трубы у больных ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой уровень общего холестерина был в 10 – 20 раз ниже, чем в крови. У больных мезотимпанитом и в группе контроля выявлена только 3 – 4-кратная разница уровней общего холестерина в смывах и в крови.

Результаты определения триглицеридов в отделяемом из слуховой трубы (таблица 4.4) показали значительное снижение их содержания у больных ХГСО обеих групп по сравнению с группой контроля ($p<0,05$). Сопоставление этих результатов в группах больных показало более высокий уровень триглицеридов у больных ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой ($p<0,05$). Выявленные отличия также касались образцов из слуховой трубы как больного уха, так и интактного.

Таблица 4.4 – Триглицериды в отделяемом из слуховой трубы у больных ХГСО, $M \pm m$

Аналит	ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой		ХГСО с мезотимпанитом		Контроль- ная группа, n=14
	ухо больное, n=17	ухо интактное, n=13	ухо больное, n=11	ухо интактное, n=10	
Триглицериды, г/л	0,18±0,09	0,15±0,05	0,11±0,06	0,12±0,06	0,27±0,08

Продолжение таблицы 4.4

Уровни значимости различий триглицеридов в отделяемом из слуховой трубы больного уха		
Группы	ХГСО с мезотимпанитом	Контрольная группа
ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой	$p<0,05$	$p<0,05$
ХГСО с мезотимпанитом		$p<0,001$
Уровни значимости различий уровня триглицеридов в отделяемом из слуховой трубы интактного уха		
Группы	ХГСО с мезотимпанитом	Контрольная группа
ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой	$p<0,05$	$p<0,05$
ХГСО с мезотимпанитом		$p<0,001$

В отделяемом из слуховой трубы у больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой уровень триглицеридов был в 5 – 6 раз ниже, чем в крови, у больных с мезотимпанитом – в 8 – 9 раз, а в группе контроля выявлена только 4-кратная разница.

Результаты исследования липидного спектра в образцах слюны после транстимпанального нагнетания воздуха в больное ухо (таблица 4.5) показали значительное снижение содержания общего холестерина у больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой по сравнению с группой контроля ($p<0,05$). У больных без холестеатомы, напротив, выявлено увеличение концентрации общего холестерина по сравнению с группой контроля ($p<0,05$) и с пациентами, у которых была обнаружена холестеатома ($p<0,001$). Указанные отличия касались также образцов слюны, полученных после транстимпанального нагнетания воздуха в интактное ухо.

Таблица 4.5 – Общий холестерин в слюне после транстимпанального нагнетания воздуха у больных ХГСО, $M \pm m$

Аналит	ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой		ХГСО с мезотимпанитом		Контроль- ная группа, n=16
	ухо больное, n=12	ухо интактное, n=11	ухо больное, n=10	ухо интактное, n=8	
Общий холестерин, ммоль/л	0,49±0,09	0,43±0,12	1,56±0,28	1,33±0,56	1,17±0,15
Уровни значимости различий общего холестерина в слюне после транстимпанального нагнетания воздуха в больное ухо					
Группы		ХГСО с мезотимпанитом		Контрольная группа	
ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой		p<0,001		p<0,05	
ХГСО с мезотимпанитом				p<0,05	
Уровни значимости различий уровня общего холестерина в слюне после транстимпанального нагнетания воздуха в интактное ухо					
Группы		ХГСО с мезотимпанитом		Контрольная группа	
ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой		p<0,001		p<0,05	
ХГСО с мезотимпанитом				p<0,05	

В образцах слюны у больных ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой уровень общего холестерина был в 10 раз ниже, чем в крови, у больных мезотимпанитом – в 3 – 4 раза, а в группе контроля выявлена 5-кратная разница.

Результаты исследования липидного спектра в образцах слюны после транстимпанального нагнетания воздуха в больное ухо (таблица 4.6) показали значительное снижение содержания триглицеридов по сравнению с группой

контроля как у пациентов с ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой ($p<0,05$), так и у больных без холестеатомы ($p<0,001$). При этом более низкий уровень триглицеридов обнаружен в группе ХГСО с мезотимпанитом ($0,09\pm0,06$ г/л против $0,27\pm0,08$ г/л у больных с холестеатомой, $p<0,01$). Выявленные статистически значимые отличия касались также образцов слюны, полученных после транстимпанального нагнетания воздуха в интактное ухо.

Таблица 4.6 – Триглицериды в слюне после транстимпанального нагнетания воздуха у больных ХГСО, $M \pm m$

Аналит	ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой		ХГСО с мезотимпанитом		Контроль-ная группа, n=16
	ухо больное, n=12	ухо интактное, n=11	ухо больное, n=10	ухо интактное, n=8	
Триглицериды, г/л	0,27±0,08	0,18±0,07	0,09±0,06	0,04±0,03	0,38±0,12
Уровни значимости различий триглицеридов в слюне после транстимпанального нагнетания воздуха в больное ухо					
Группы		ХГСО с мезотимпанитом		Контрольная группа	
ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой		p<0,01		p<0,05	
ХГСО с мезотимпанитом				p<0,001	
Уровни значимости различий уровня триглицеридов в слюне после транстимпанального нагнетания воздуха в интактное ухо					
Группы		ХГСО с мезотимпанитом		Контрольная группа	
ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой		p<0,01		p<0,05	
ХГСО с мезотимпанитом				p<0,001	

В образцах слюны у больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой уровень триглицеридов был в 3-4 раз ниже, чем в крови, у больных мезотимпанитом – в 10 – 20 раз, а в группе контроля выявлена только 3-кратная разница.

Таблица 4.7 – Общий холестерин и триглицериды в смывах из барабанной полости у больных ХГСО, $M \pm m$

Аналит	ХГСО с эпитимпанитом и холестеатомой, n=14	Статистиче- ская значимость различий, t	ХГСО с мезотимпанитом, n=9
Холестерин, ммоль/л	0,38±0,09	p<0,01	1,01±0,24
Триглицериды, г/л	0,17±0,07	p>0,05	0,16±0,08

Исследование липидов в смывах из барабанной полости показали значительное снижение содержания общего холестерина у больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой по сравнению с пациентами без холестеатомы (p<0,01). У больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой уровень общего холестерина в смывах из барабанной полости был в 13 раз ниже, чем в крови, а у больных мезотимпанитом выявлена только 5-кратная разница.

Уровень триглицеридов в смывах из барабанной полости в обеих группах больных был одинаковым (p>0,05) и меньшим в 6 раз по сравнению с их содержанием в крови.

Таким образом, результаты анализа показателей липидного спектра свидетельствуют, что при ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой имеется нарушение процесса обмена холестерина из тканей среднего уха с холестерином плазмы крови. Сниженное содержание липидов в отделяемом из слуховой трубы и смывах из полости среднего уха, а также в слюне после транстимпанального нагнетания воздуха указывает на нарушение процесса транспорта холестерина из патологического очага при ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой.

Не исключено, что выявленные изменения транспорта холестерина в тканях барабанной полости являются генетически детерминированными и могут рассматриваться в качестве патогенетического фактора, определяющего клиническое течение ХГСО с формированием холестеатомы.

4.2. Морфологический анализ твердой фазы биологических жидкостей при хроническом гнойном среднем отите

В ряде случаев распознавание формирования холестеатомы у больных хроническим гнойным средним отитом остается весьма проблематичным. Холестеатома является тяжелым осложнением среднего отита, которое приводит к инвалидизации больных, поэтому поиск методов наиболее ранней ее диагностики представляет собой весьма важную задачу. В связи с этим в настоящей работе был опробован метод морфологического анализа твердой фазы биологических жидкостей для исследования слюны и отделяемого из слуховой трубы). Метод отличается простотой, неинвазивностью и высокой информативностью.

Слуховая труба является естественным каналом, связывающим носоглотку с барабанной полостью, где развивается холестеатомный процесс. Этот простой анатомически, но функционально сложный орган осуществляет ряд физиологических процессов, нарушение которых приводит к развитию патологических состояний. Цилиндрический мерцательный эпителий слизистой оболочки и сокращения тубарных мышц эвакуируют из полости среднего уха в носоглотку слизь и слущенный эпителий. В условиях появления патологических изменений в среднем ухе в эвакуате содержатся продукты воспаления и деструктивных процессов, что должно изменить его морфологическую картину.

4.2.1. Морфологическая характеристика слюны у взрослых

Слюну у обследуемых получали в трех порциях по методу В.И. Самбулова и соавт. (1999) [Самбулов В.И., 1999]. Первая порция слюны была тощаковой, вторая отбиралась после жевания жевательной резинки и глотания слюны. Третья

порция слюны была получена после транстимпанального нагнетания воздуха в слуховой проход, которое активирует поступление эвакуата из барабанной полости в носоглотку и в слюну.

Обследовано 60 больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой, 25 больных ХГСО с мезотимпанитом без холестеатомы и 28 добровольцев без патологии верхних дыхательных путей. Препараты слюны были приготовлены методами краевой и клиновидной дегидратации. Морфологический анализ препаратов слюны осуществляли при световой микроскопии в проходящем свете при ок. 5 х, об. 4 х – 8 х.

Результаты исследования слюны методом клиновидной дегидратации

Морфологический анализ препаратов образцов слюны проводился с изучением двух основных зон: периферической и центральной. Как правило, центральная зона занимает большую часть препарата и представлена кристаллами солей, а периферическая выглядит узким кольцом и состоит из органических компонентов слюны.

В группе контроля центральная зона препаратов слюны в 85,7% случаев имела радиальную направленность кристаллов солей. У остальных обследуемых (14,3%) выявлена менее структурированная картина с присутствием глыбчатых и звездчатых образований. Периферическая зона характеризовалась наличием дополнительных включений, ее ширина составляла 9 – 17% радиуса округлого пятна препарата.

Морфологическая картина препаратов 1-й порции слюны, взятой натошак, у всех лиц в группе контроля (100%) имела трехлучевые трещины, которые авторы метода [Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., 2001] считают маркером так называемых застойных явлений (рисунок 4.1).



Рисунок 4.1 – Препарат тощаковой порции слюны в группе контроля (метод клиновидной дегидратации)

Центральная и периферические зоны препаратов слюны 2-й и 3-й порций имели аморфный вид. В периферической зоне препаратов трехлучевые трещины отсутствовали у всех обследуемых (100%) (рисунок 4.2).

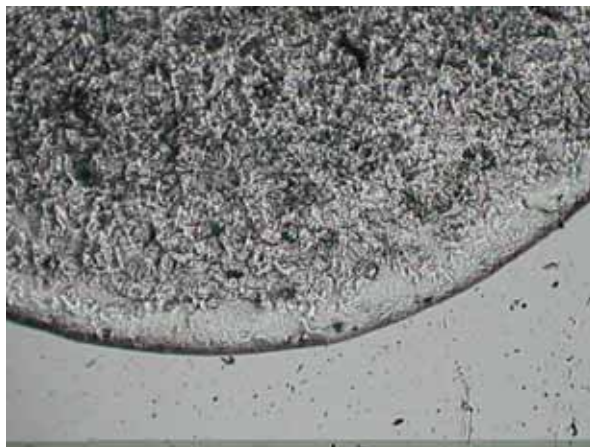


Рисунок 4.2 – Препарат 2-й порции слюны в группе контроля (метод клиновидной дегидратации)

Результаты морфологического анализа препаратов трех порций слюны в группе контроля представлены в таблице 4.8.

Авторы метода объясняют отличие морфологических характеристик препаратов 1-й порции слюны от 2-й порции в группе контроля тем, что в ротовой полости натошак содержатся компоненты остатков пищи и продукты

жизнедеятельности микрофлоры, а в процессе жевания и глотания наступает смена застойной слюны на свежую. При отсутствии патологии слюнных желез, воспалительных и деструктивных процессов в зубах и в слизистой оболочке ротовой полости новое поступление слюны не содержит признаков застойных явлений.

Таблица 4.8 – Частота выявления трехлучевых трещин в краевой зоне препаратов слюны в группе контроля (метод клиновидной дегидратации)

Порция слюны	Частота признака	
	абс.	%
1-я	28	100,0
2-я	0	0
3-я	0	0

В собственных исследованиях морфологическая картина препаратов 3-й порции слюны, содержащей отделяемое из полости среднего уха, в группе контроля не менялась.

Во всех порциях слюны структура центральных зон препаратов у всех обследованных не отличалась между собой.

У всех больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой (100%) в препаратах первой порции слюны, как и у обследованных из группы контроля, выявлены трехлучевые трещины в периферической зоне, которые являются маркером застойных явлений – (рисунок 4.3). Результаты морфологического анализа препаратов трех порций слюны больных представлены в таблице 4.9.



Рисунок 4.3 – Препарат слюны при хроническом гнойном среднем отите с эптитимпанитом и холестеатомой (1-я порция, метод клиновидной дегидратации)

В препаратах слюны 2-й порции (после жевания и глотания) маркер застойных явлений не выявлен – трехлучевые трещины в краевой зоне отсутствовали у всех больных (100%) (рисунок 4.4).

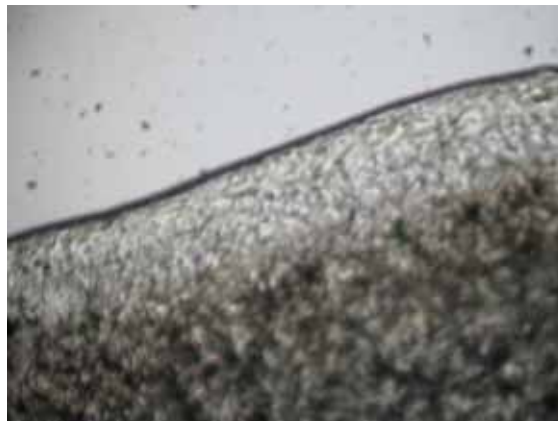


Рисунок 4.4 – Препарат слюны при хроническом гнойном среднем отите с эптитимпанитом и холестеатомой (2-я порция, метод клиновидной дегидратации)

Периферическая зона препаратов содержала небольшое количество аморфных включений.

После транстимпанального нагнетания воздуха у большей части больных (76,6%) в препаратах слюны отмечено появление трехлучевых трещин в краевой зоне (таблица 4.9).

Таблица 4.9 – Частота выявления трехлучевых трещин в краевой зоне препаратов слюны больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой (метод клиновидной дегидратации)

Порция слюны	Частота признака	
	абс.	%
1-я	60	100,0
2-я	0	0
3-я	46	76,6

Характер препаратов 3-й порции слюны в группе больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой свидетельствует об эвакуации в ротовую полость патологических компонентов отделяемого из барабанной полости. Выявление трехлучевых трещин в краевой зоне препаратов у большинства больных (76,6%) указывает на наличие деструктивных процессов в полости среднего уха.

У всех больных ХГСО с мезотимпанитом без холестеатомы (100%) в препаратах 1-й порции слюны (натошак) также отмечено наличие в краевой зоне препаратов трехлучевых трещин (рисунок 4.5, таблица 4.10).

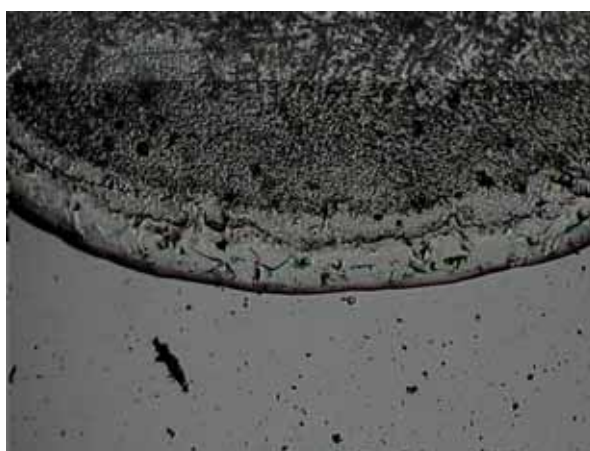


Рисунок 4.5 – Препарат 1-й порции слюны больного ХГСО с мезотимпанитом без холестеатомы (метод клиновидной дегидратации).

Таблица 4.10 – Частота выявления трехлучевых трещин в краевой зоне препаратов слюны больных ХГСО с мезотимпанитом без холестеатомы (метод клиновидной дегидратации)

Порция слюны	Частота признака	
	абс.	%
1-я	25	100,0
2-я	0	0
3-я	1	4,0

В препаратах 2-й порции слюны у всех больных ХГСО с мезотимпанитом без холестеатомы отмечено отсутствие трехлучевых трещин в краевой зоне, что свидетельствует об удалении из полости рта продуктов так называемых застойных процессов. Периферическая зона препаратов была светла и прозрачна, имела редкие аморфные включения (рисунок 4.6).

Исследование препаратов 3-й порции слюны у больных ХГСО с мезотимпанитом без холестеатомы показало отсутствие трехлучевых трещин в краевой зоне у большинства больных (96%), только у 1 пациента (4%) выявлен маркер застойных явлений.

Сходство морфологической картины препаратов всех трех порций слюны, выявленное в группе контроля и больных ХГСО с мезотимпанитом без холестеатомы, может быть обусловлено незначительностью экссудации и преобладанием процессов пролиферации и гиперплазии клеток на фоне низкого уровня деструктивных процессов у последних.

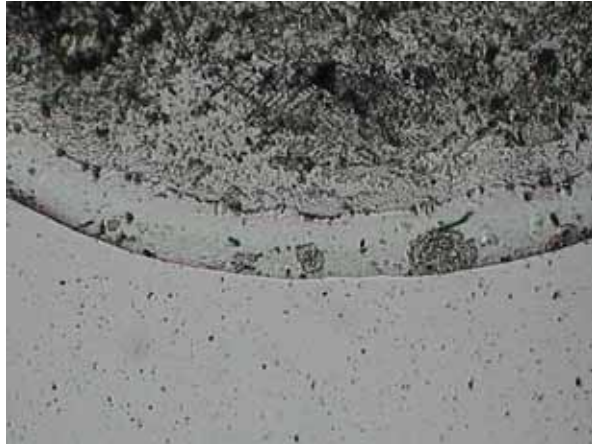


Рисунок 4.6 – Препарат 2-й порции слюны больного ХГСО с мезотимпанитом без холестеатомы (метод клиновидной дегидратации).

Результаты исследования слюны методом краевой дегидратации

Холестеатомный процесс сопровождается некробиозом и деструкцией слизистой оболочки среднего уха, что вызывает появление продуктов этих патологических процессов в эвакуате из барабанной полости. Учитывая, что холестерин – это основной структурный компонент клеточных мембран и холестеатомы, его появление в отделяемом из среднего уха и в слюне вполне возможно.

Пластинчатый морфотип (кристаллы холестерина, по мнению авторов метода) в препаратах слюны является маркером деструктивного процесса. В условиях отсутствия патологии слюнных желез, воспалительных и деструктивных процессов в полости рта наличие пластинчатого морфотипа в препаратах 2-й и 3-й порций или только 3-й порции является косвенным подтверждением наличия холестеатомного процесса в полости среднего уха.

В настоящей работе в препаратах слюны, изготовленных с использованием краевой дегидратации, были выявлены во всех группах исследования и во всех случаях плоские стеклообразные полупрозрачные кристаллы с четкими краевыми прямоугольными очертаниями, идентичные пластинчатому морфотипу, описанному В.И. Самбуловым (2003) (рисунки 4.7 - 4.8). Поэтому диагностическое значение этого признака выявить не представилось возможным.

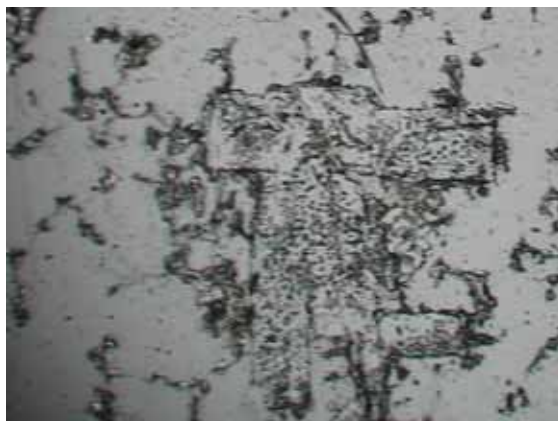


Рисунок 4.7 – Пластинчатый морфотип, располагающийся в центральной части препарата слюны (метод краевой дегидратации).



Рисунок 4.8 – Пластинчатый морфотип, располагающийся в периферической части препарата слюны (метод краевой дегидратации)

В группе контроля картина центральной части препаратов 1-й порции слюны (натошак) в 78,6% случаев не содержала пластинчатые морфотипы, но на периферии они присутствовали (рисунок 4.9).

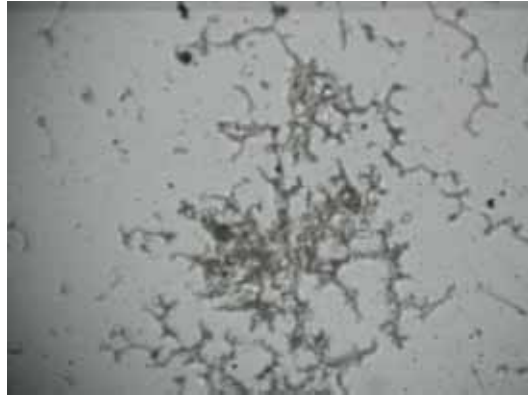


Рисунок 4.9 – Отсутствие пластинчатого морфотипа в центральной зоне препарата 1-й порции слюны в группе контроля (метод краевой дегидратации)

В остальных случаях в группе контроля (21,4%) и в центральной части препарата, и на остальной площади препаратов был выявлен пластинчатый морфотип (рисунок 4.10).

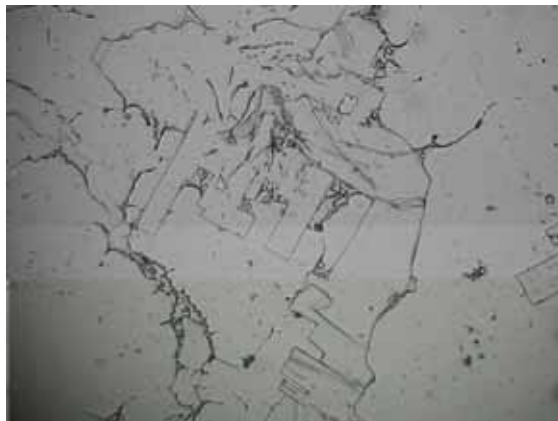


Рисунок 4.10 - Пластинчатый морфотип в центральной зоне препарата 1-й порции слюны (метод краевой дегидратации)

4.2.2. Изучение природы холестериноподобных кристаллов

До настоящего времени содержание пластинчатого морфотипа (кристаллов холестерина) в препаратах биологических жидкостей обосновывалось следующими фактами. Холестерин содержится в клеточных мембранах и в мембранах структурных образований цитоплазмы. При разрушении клеток

холестерин высвобождается и удаляется из зоны цитолиза. Попадая в экссудат, холестерин, благодаря своим формообразующим свойствам, переходит из раствора в твердую фазу – кристаллы с характерной морфологической картиной в виде ступенчатых прямоугольных полупрозрачных пластин [Самбулов В.И., 2003].

В собственных исследованиях пластинчатые морфотипы были обнаружены во всех случаях изучения препаратов слюны (метод краевой дегидратации). Этот факт противоречит существующей теории происхождения пластинчатых морфотипов, поэтому было проведено исследование препаратов, приготовленных из раствора холестерина. Для этого был использован раствор холестерина 5,17 ммоль/л (0,2%), входящий в набор реагентов для определения общего холестерина в крови (ООО «Vital diagnostics SPb», Санкт-Петербург). На препарате, приготовленном методом краевой дегидратации, вместо пластинчатых морфотипов были видны округлые жиробразные пятна (капли) холестерина (рисунок 4.11).

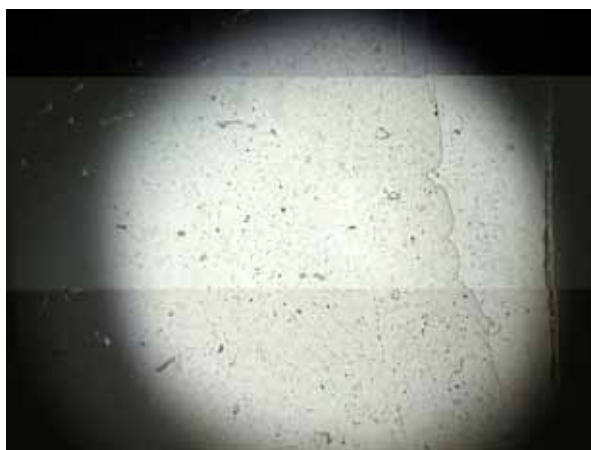


Рисунок 4.11 – Препарат раствора холестерина (метод краевой дегидратации).

Далее раствор холестерина был добавлен во 2-ю порцию слюны здорового человека (рисунок 4.12).

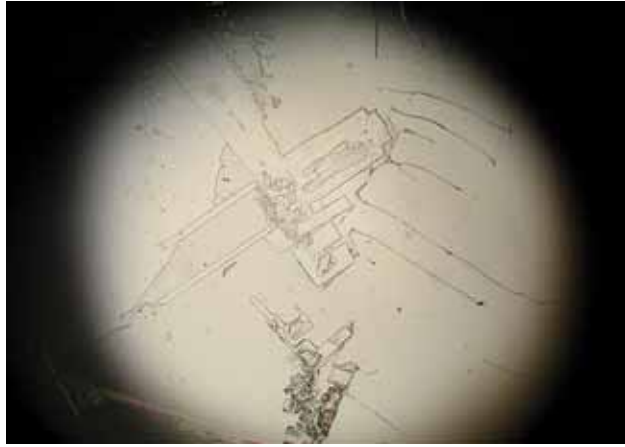


Рисунок 4.12 – Препарат 2-й порции слюны здорового человека со стандартным холестерином (метод краевой дегидратации).

На рисунке 4.12 видно, что присутствуют жиробразные капли холестерина и пластинчатый морфотип, которого в группе контроля во 2-й порции слюны после интенсивного жевания и глотания слюны, согласно существующей теории, быть не должно.

Эти результаты послужили основанием для изготовления и анализа препарата чистого раствора хлорида натрия, так как это вещество является основным неорганическим компонентом биологических жидкостей. Была выбрана концентрация 0,9%. На рисунке 4.13 представлен препарат физиологического раствора хлорида натрия, приготовленный методом краевой дегидратации.

Вся площадь препарата была покрыта полупрозрачными кристаллами с характерными прямоугольными очертаниями. Эти структуры были сходными с пластинчатыми морфотипами, выявленными в слюне пациентов в работе В.И. Самбулова и соавт. (2001) и в настоящей работе во всех препаратах слюны.

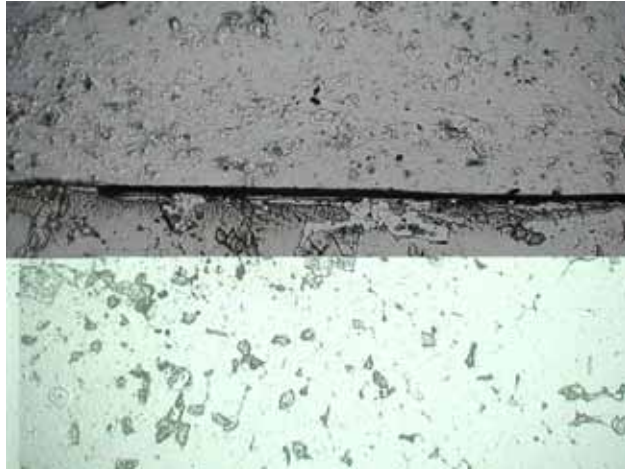


Рисунок 4.13 – Препарат физиологического раствора (метод краевой дегидратации).

Результаты морфологического анализа отдельных препаратов холестерина и физиологического раствора позволяют предположить, что в препаратах слюны пластинчатым морфотипом являются кристаллы не холестерина, а натрия хлорида.

Вместе с тем заслуживает внимания тот факт, что пластинчатый морфотип выявлялся в центральной части препаратов слюны только в части образцов. Не исключено, что его присутствие в препаратах 1-й порции слюны (тощаковой) обусловлено «застойной» слюной, а в препаратах 3-й порции слюны – с холестеатомным процессом в барабанной полости. Этот феномен, возможно, обусловлен наличием в слюне факторов, при которых натрия хлорид кристаллизуется в виде пластинчатых морфотипов, размещающихся в центре препаратов. Не исключено, что такие факторы появляются в слюне как компоненты патологического отделяемого из среднего уха, в котором происходит холестеатомный процесс.

4.2.3. Морфологическая характеристика препаратов отделяемого из среднего уха

В целях усовершенствования метода диагностики холестеатомного процесса у больных ХГСО в настоящей работе был использован новый способ взятия биологического материала. Достоинство способа состоит в получении отделяемого из среднего уха напрямую из слуховой трубы в чистом виде без смешения его со слюной и контаминации продуктами из возможных очагов воспаления и деструкции в полости носоглотки и рта.

Пробное взятие материала показало, что объем отделяемого, находящегося в слуховой трубе, недостаточен для изготовления препаратов, поэтому выполнялись смывы. В слуховую трубу вводили 0,1 мл 0,9% раствор хлорида натрия, затем этот объем отбирали обратно в шприц.

Исследование смывов из устья слуховой трубы методом клиновидной дегидратации

В группе контроля смывы получали из устьев обеих слуховых труб. В морфологических характеристиках препаратов смывов из разных сторон различий не выявлено. Периферическая зона препаратов смывов была значительно уже по сравнению с препаратами слюны (рисунок 4.14).



Рисунок 4.14 – Препарат смыва из слуховой трубы, группа контроля (метод клиновидной дегидратации).

Следующей особенностью краевой зоны была прозрачность, обусловленная снижением содержания белковых и других органических включений. На границе центральной и периферической зон были выявлены крупные кристаллы квадратной формы. Трехлучевые трещины в краевой зоне препаратов не обнаружены. Центральная зона препарата была покрыта кристаллами квадратной формы, но значительно мельче, чем в краевой зоне. От квадратных кристаллов радиально отходили тонкие лучеобразные структуры без ответвлений.

У больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой картина препарата смыва из слуховой трубы здорового уха не отличалась от контроля. Краевая зона также характеризовалась прозрачностью, низким содержанием органических включений и отсутствием трехлучевых трещин. Ее ширина также составляла от 1 до 5% радиуса округлого пятна препарата.

Морфологическая картина препаратов смывов из слуховой трубы уха с воспалительным процессом и холестеатомой была представлена тремя вариантами. Первый вариант был выявлен у большей части больных (69,7%) и отличался широкой светлой краевой зоной (40 – 60% радиуса округлого пятна препарата) с большим количеством органических структур (рисунок 4.15).



Рисунок 4.15 – Препарат отделяемого из слуховой трубы больного уха с высоким содержанием органических веществ (метод клиновидной дегидратации).

Периферическая зона в препаратах смывов включала большое количество зернистых образований. Этот признак указывает на высокое содержание

органических веществ в эвакуате из полости среднего уха с холестеатомным процессом. Трехлучевые трещины в периферической зоне препаратов отсутствовали.

Центральная зона препаратов была покрыта детритными структурами кристаллов солей, а также зернистыми и мелкоглыбчатыми включениями.

Второй вариант морфологической картины препаратов смывов характеризовался средним количеством органических компонентов. Краевая зона таких препаратов имела несколько меньшую ширину (15 – 20% радиуса округлого пятна препарата), чем в образцах первого варианта (рисунок 4.16) и характеризовалась такой же прозрачностью, как и в группе контроля, но с содержанием мелких глыбчатых включений. Трехлучевые трещины в периферической зоне отсутствовали.

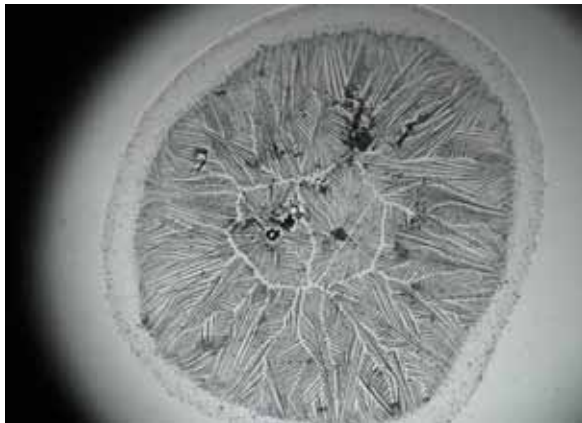


Рисунок 4.16 – Препарат смыва из слуховой трубы больного уха со средним содержанием органических веществ (метод клиновидной дегидратации).

Центральная зоны препарата смыва из слуховой трубы уха, пораженного холестеатомой, на большей части была заполнена детритными структурами кристаллов солей.

У больных наблюдался третий вариант морфологической картины препаратов смывов из слуховой трубы, характеризующийся низким содержанием органических компонентов. Краевая зона таких препаратов отличалась самой маленькой шириной, составляющей примерно 5% радиуса округлого пятна

препарата, как и в препаратах смывов слуховой трубы здорового уха (рисунок 4.17).

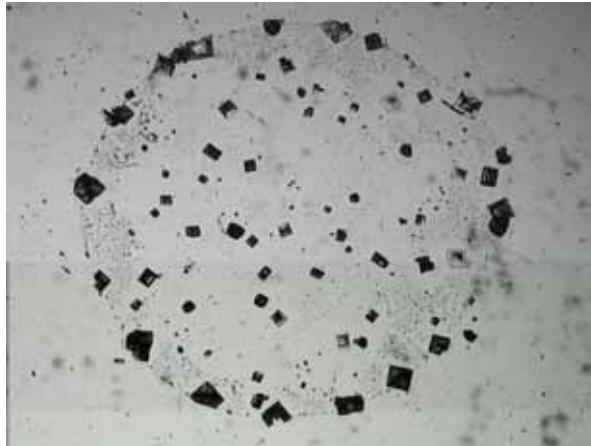


Рисунок 4.17 – Препарат смыва из слуховой трубы больного уха с низким содержанием органических веществ (метод клиновидной дегидратации).

Периферическая зона препарата была прозрачна, содержала крупные квадратные кристаллы солей и небольшое количество органических включений. Трехлучевые трещины не выявлены. Центральная зона препарата содержала менее крупные кристаллы, такой же квадратной формы, с тонкими прямолинейными структурами без ответвлений, отходящими радиально от кристаллов или от неразличимых центров.

Таким образом, при изучении препаратов отделяемого из среднего уха с холестеатомой методом клиновидной дегидратации было выявлено три варианта морфологической картины с различной частотой встречаемости: с высоким (69,7%), средним (21,2%) и низким (9,1%) содержанием органических веществ.

У больных ХГСО с мезотимпанитом без холестеатомы были выявлены аналогичные варианты морфологической картины отделяемого из слуховой трубы но с иной частотой: с высоким содержанием органических веществ в 3,7% случаев, средним – в 36,2% и низким – в 60,1%. При использовании вариантов с высоким и средним содержанием в препаратах органических веществ как признаков холестеатомы среднего уха чувствительность метода составляет 90,9%, а специфичность – 60,1%.

Результаты исследования отделяемого из слуховой трубы методом краевой дегидратации

Морфологическая картина препаратов смывов из слуховой трубы, приготовленных методом краевой дегидратации, изучена в случаях, которые были описаны выше. Взятие материала выполняли из слуховых труб с обеих сторон.

У всех обследованных были обнаружены пластинчатые морфотипы в краевой (рисунок 4.18) и центральной зонах препаратов (рисунок 4.19).



Рисунок 4.18 – Пластинчатый морфотип в краевой части препарата смыва из слуховой трубы (метод краевой дегидратации).

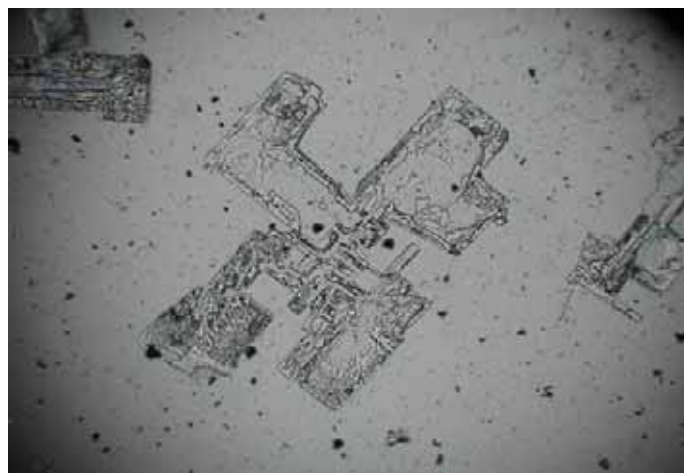


Рисунок 4.19 – Пластинчатый морфотип в центральной части препарата смыва из слуховой трубы (метод краевой дегидратации).

Анализ результатов исследований смывов из слуховой трубы, приготовленных методом краевой дегидратации, не выявил значимых различий между здоровыми людьми и больными при различных патологических процессах полости среднего уха.

4.3. Результаты гистологических исследований

В препаратах материала, полученного у 85 больных ХГСО, присутствовали фрагменты барабанной перепонки, слизистой оболочки барабанной полости и кистообразные элементы. Их соединительнотканная оболочка плотно прилегала к кости и была покрыта ороговевающим многослойным плоским эпителием. Внутри этих образований присутствовали слоистые массы слущившегося ороговевающего эпителия, в некоторой части которого содержался холестерин.

В препаратах присутствовали пласты соединительной ткани, которая состояла из радиально и циркулярно ориентированных слоев коллагеновых и эластических волокон, содержащих немногочисленные клеточные ядра. Барабанная перепонка имеет подобную структуру.

Выявлены также структуры, похожие на фрагменты слизистой оболочки барабанной полости, представленные однослойным кубическим и призматическим мерцательным эпителием, располагающемся на тонкой собственной пластине. При окраске гематоксилин-эозином в цитоплазме эпителиальных клеток присутствие светлых вакуолей, т.е. внутриклеточно расположенных липидов, не выявлено. Среди соединительнотканнных волокон липидных отложений также не обнаружено.

Окраска срезов Oil red с докраской ядер гематоксилином позволила выявить в слизистой оболочке барабанной полости обильные внутри- и внеклеточные массы, среди которых наблюдались ядра как нейтрофильных, так и эозинофильных лейкоцитов. Повышенное присутствие в ткани этих клеток свидетельствует о воспалительном процессе в острой фазе. Микробная обсемененность в изученных препаратах не выявлена.

При оценке морфологической картины препаратов было обращено внимание на поиск клеток, напоминающих «пенистые» клетки стенки кровеносных сосудов, которые характерны для атеросклеротических изменений. Наличие таких клеток было бы свидетельством, что выявленные массы в самом деле являются липидными отложениями с внутриклеточной локализацией. В препаратах были выявлены лишь единичные «пенистые» клетки, нагруженные липидами, имеющие, видимо, макрофагальную природу. Источником липидов в них служил слущившийся ороговевающий эпителий.

В итоге результаты гистологического исследования свидетельствуют о внеклеточной локализации основной массы липидов в холестеатоме среднего уха.

ГЛАВА 5. ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ НАРУЖНОМ ДИФфуЗНОМ ОТИТЕ У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ

Проведено клинико-лабораторное обследование 100 больных с верифицированным диагнозом «бактериальный наружный диффузный отит» (БНДО). Больные были распределены на 3 группы в соответствии с характером клинической картины заболевания и видом лечения. Больным первой группы (32 чел.) была назначена традиционная комплексная терапия, включающая антибиотикотерапию (амоксиклав таблетки по 1 г внутрь 2 раза в день в течение 7 дней) и обработку наружного слухового прохода антисептиком (турунды с 3% спиртовым раствором борной кислоты 2 раза в день в течение 7 дней). Больным второй группы (36 чел.) дополнительно к комплексной терапии проводили местную аутогемотерапию (2 – 3 инъекции 0,5 – 2,0 мл аутокрови, в зависимости от остроты воспалительного процесса с интервалом, в течение 1 – 3 дней, в зависимости от лечебного эффекта процедуры) [Кустов М.О., 2012]. Больным третьей группы (32 чел.) дополнительно к комплексному лечению назначали фитотерапию (прием 10% настоя травы чистотела по 200 мл, разделенных на 3 приема, ежедневно в течение 4 недель) [Гребенщикова Л.А., 1994].

При распределении больных БНДО по группам учитывались особенности клинической картины заболевания. Так, во вторую группу были включены преимущественно пациенты с наибольшей степенью выраженности болевого синдрома (таблица 5.1), поскольку выполнение местной аутогемотерапии позволяло в короткие сроки купировать оталгию.

У более половины больных (58 чел., 58%) поступление на стационарное лечение было первым обращением по поводу наружного отита (таблица 5.2). Для остальных 42% пациентов это было повторное обращение или в 3-й раз и более, причем такие больные преобладали в группе 2, и их доля составила 63,9%, что статистически значимо отличается от других групп ($p < 0,05$), в первую очередь от первой, где данная категория составила всего 28,1% (9 чел.).

Таблица 5.1 – Оценка выраженности болевого синдрома в группах больных БНДО по вербальной категориальной шкале VRS

Степень	Группа 1 (n=28)*		Группа 2 (n=36)		Группа 3 (n=32)		Всего (n=96)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
незначительная	8	28,6	0	0	3	9,4	11	11,5
умеренная	16	57,1	5	13,9	8	25,0	29	30,2
интенсивная	4	14,3	31	86,1	21	65,6	56	58,3
умеренная + интенсивная	20	71,4	36	100,0	29	90,6	89	88,5

Примечание: * – в группе 1 оценка выполнена только у 28 человек из 32.

Таблица 5.2 – Кратность обращения больных по поводу БНДО при поступлении на стационарное лечение

Крат- ность обраще- ния	Группа 1 (n=32)		Стати- стиче- ская значи- мость разли- чий, t	Группа 2 (n=36)		Стати- стиче- ская значи- мость разли- чий, t	Группа 3 (n=32)		Всего (n=100)	
	абс.	%		абс.	%		абс.	%	абс.	%
впервые	23	71,9	p<0,05	13	36,1	p<0,05	22	68,8	58	58,0
повторно	4	12,5	p>0,05	11	30,6	p>0,05	4	12,5	19	19,0
3-й раз и более	5	15,6	p<0,05	12	33,3	p<0,05	6	18,8	23	23,0
повторно + 3-й раз и более	9	28,1	p<0,05	23	63,9	p<0,05	10	31,3	42	42,0

Таким образом, в группу 2 было включено статистически значимо большее число больных с максимальной выраженностью болевого синдрома и отягощенным анамнезом. Группа 3 также характеризовалась значительно большей частью больных с умеренной и интенсивной степенью оталгии по сравнению с группой 1 – 90,6% против 71,4% соответственно. При этом интенсивная степень болевого синдрома у больных группы 3 выявлена в 65,6% случаев против 14,3% в группе 1.

Такой подход к формированию групп исследования в меньшей степени создавал равные условия для оценки эффективности новых методов терапии БНДО, но позволял изучить показатели системы иммунитета при различных вариантах клинической картины заболевания.

Контрольную группу составили 32 добровольца без воспалительных заболеваний ЛОР- и внутренних органов.

5.1. Микробиологическая характеристика очага воспаления

Результаты микробиологических исследований показали бактериальное присутствие в очаге воспаления в наружном ухе у всех больных. У 93% пациентов это было обнаружено бактериологическим методом, а в 7% случаев (с отрицательным результатом бактериологического посева) положительный результат получен при использовании бактериоскопического метода.

У большей части больных с положительными результатами бактериологических посевов (75,3%) выявлена монофлора, в меньшей части (24,7%) были определены 2-х – 3-х компонентные ассоциации микрофлоры. В подавляющей части случаев выявлялись 2-х компонентные ассоциации (91,3%), а 3-х компонентные – только у 8,7% пациентов.

Монофлора у больных БНДО была в большей части случаев (54%) представлена *Pseudomonas aeruginosa* и в значительно меньшей (13%) – *Staphylococcus aureus*. В составе микробных ассоциаций эти патогены выявлены в 15% и 13% случаев соответственно. Другие патогенные и условно-патогенные бактерии высевались у 19% пациентов и были представлены *Enterococcus faecalis*,

Staphylococcus epidermidis, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*.

Во всех группах исследования высеваемость основных патогенов была примерно одинаковой (таблица 5.3).

Таблица 5.3 – Высеваемость бактерий, имеющих наибольшее значение в этиологии БНДО, в группах исследования до начала лечения

Виды бактерий	Группа 1 (n = 32)		Группа 2 (n = 36)		Группа 3 (n = 32)		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16	50,0	17	47,2	21	65,6	54	54,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	18,8	4	11,1	3	9,4	13	13,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	3,1	5	13,9	1	3,1	7	7,0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	3,1	0	0	1	3,1	2	2,0
Отрицательный результат посева, положительный результат микроскопии	3	9,4	2	5,6	2	6,3	7	7,0

Было проведено определение лекарственной чувствительности указанных бактерий. Результаты исследований представлены в таблице 5.4.

Результаты исследований свидетельствуют, что у всех штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* выявлена резистентность к гентамицину и левомицетину, которые входят в состав ушных капель, применяемых при лечении наружных отитов. Наиболее высокая чувствительность *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* определена к амоксиклаву, цефтриаксону, цефтазидиму и ципрофлоксацину.

Таблица 5.4 – Лекарственная чувствительность бактерий, имеющих наибольшее значение в этиологии БНДО, до начала лечения

Антибактериальные препараты	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n =24)		<i>Staphylococcus aureus</i> (n =13)		<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n =7)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
ампициллин	0	0	0	0	0	0
амоксиклав	20	83,3	11	84,6	7	100
цефазолин	0	0	0	0	7	100
цефтриаксон	12	50,0	12	92,3	7	100
цефтазидим	24	100	12	92,3	7	100
ципрофлоксацин	22	91,7	9	69,2	7	100
гентамицин	0	0	0	0	2	28,6
левомецетин	0	0	0	0	4	57,1

5.2. Состояние системы иммунитета при бактериальном наружном диффузном отите

Клинический анализ крови

Больным БНДО при поступлении на стационарное лечение был выполнен клинический анализ крови. При оценке результатов основное внимание было обращено на показатели лейкоцитов периферической крови, т.к. в настоящее время клинический анализ крови несколько утратил свою значимость для клинической практики. Связано это с изменением реактивности системы иммунитета, которое обусловлено распространением антимикробной терапии, зачастую неконтролируемой, и проявляется в отсутствии ожидаемых уровней ответа на инфекционное воспаление. Тем не менее, количественная и качественная характеристика клеток периферической крови и СОЭ может давать важную информацию о состоянии организма, которая позволяет более полно

проводить диагностику и осуществлять прогноз клинического течения заболевания. Данные клинического анализа крови у больных бактериальным наружным диффузным отитом при поступлении представлены в таблице 5.5.

Таблица 5.5 – Лейкоцитарные показатели и СОЭ в группах исследования до начала лечения

Аналит		Группа 1 (n=32)	Группа 2 (n=36)	Группа 3 (n=32)	Референс- ные значения
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$		11,56 $\pm 0,54$	11,27 $\pm 0,58$	11,77 $\pm 0,47$	4-8
палочко- ядерные нейтрофилы	%	4,25 $\pm 0,38$	3,19 $\pm 0,35$	4,69 $\pm 0,50$	1-6
	$10^9/\text{л}$	0,49 $\pm 0,04$	0,36 $\pm 0,04$	0,53 $\pm 0,06$	0,04-0,3
сегменто- ядерные нейтрофилы	%	67,03 $\pm 1,44$	65,69 $\pm 1,71$	64,47 $\pm 1,25$	47-72
	$10^9/\text{л}$	7,75 $\pm 0,17$	7,40 $\pm 0,19$	7,27 $\pm 0,14$	2,0-5,5
эозинофилы	%	2,14 $\pm 0,38$	2,55 $\pm 0,44$	4,14 $\pm 0,54$	0,5-5
	$10^9/\text{л}$	0,25 $\pm 0,04$	0,29 $\pm 0,05$	0,47 $\pm 0,06$	0,02-0,3
базофилы	%	1,33 $\pm 0,33$	1,4 $\pm 0,24$	1,33 $\pm 0,33$	0-0,5
	$10^9/\text{л}$	0,15 $\pm 0,04$	0,16 $\pm 0,03$	0,15 $\pm 0,04$	0,0-0,065
лимфоциты	%	22,59 $\pm 1,38$	24,03 $\pm 1,5$	22,84 $\pm 1,3$	19-38
	$10^9/\text{л}$	2,61 $\pm 0,16$	2,71 $\pm 0,17$	2,57 $\pm 0,15$	1,2-3,0
моноциты	%	5,03 $\pm 0,45$	5,56 $\pm 0,58$	5,09 $\pm 0,45$	3-11
	$10^9/\text{л}$	0,58 $\pm 0,05$	0,63 $\pm 0,07$	0,57 $\pm 0,05$	0,09-0,6
СОЭ по Панченкову, мм/ч		25,03 $\pm 1,85$	19,11 $\pm 1,21$	24,00 $\pm 1,86$	2-15

Полученные результаты клинического анализа крови у больных БНДО при поступлении на стационарное лечение показал превышение ряда лейкоцитарных показателей. Средние значения лейкоцитов в крови у больных в каждой из групп

исследования превышали референсный диапазон, но статистически значимые различия между группами отсутствовали ($p>0,05$): $11,56 \pm 0,54 \times 10^6/\text{л}$ (гр. 1), $11,27 \pm 0,58 \times 10^6/\text{л}$ (гр. 2) и $11,77 \pm 0,47 \times 10^6/\text{л}$ (гр. 3). Среднее содержание лейкоцитов в крови у всех больных составило $11,52 \pm 0,31 \times 10^6/\text{л}$.

Уровни скорости оседания эритроцитов (СОЭ) во всех трех группах больных также превышали референсный диапазон: $25,03 \pm 1,85$ мм/ч (гр. 1), $19,11 \pm 1,21$ мм/ч (гр. 2) и $24,00 \pm 1,86$ мм/ч (гр. 3). Средние значения СОЭ 1-й и 3-й групп не имели статистически значимых различий ($p>0,05$), но были статистически значимо выше по сравнению со 2-й группой ($p<0,05$). Среднее значение СОЭ у всех больных составило $22,57 \pm 0,97$ мм/ч.

Повышение этих двух гематологических параметров характеризует общую системную реакцию организма на патогенные бактерии, являющиеся этиологическим фактором наружного отита. Вместе с тем, в лейкоцитарной формуле палочкоядерного сдвига в процентах не выявлено. Однако расчет абсолютного содержания показал повышение палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов в крови у больных всех трех групп. Так, доля палочкоядерных нейтрофилов составила от $3,19 \pm 0,35\%$ в группе 2 до $4,69 \pm 0,50\%$ в группе 3 при норме до 6%, но среднее значение их абсолютного содержания было статистически значимо выше нормы во всех (1, 2, 3) группах: $0,49 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ ($p<0,05$), $0,36 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ ($p<0,05$) и $0,53 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ ($p<0,05$) соответственно при норме до $0,3 \times 10^9/\text{л}$. Доля сегментоядерных нейтрофилов также была в референсных пределах 47 – 72%: от $64,47 \pm 1,25\%$ в группе 3 до $67,03 \pm 1,44\%$ в группе 1. Напротив, их абсолютные значения во всех группах больных были статистически значимо выше нормы: $7,75 \pm 0,17 \times 10^9/\text{л}$ ($p<0,05$), $7,40 \pm 0,19 \times 10^9/\text{л}$ ($p<0,05$) и $7,27 \pm 0,14 \times 10^9/\text{л}$ ($p<0,05$) соответственно при норме до $5,5 \times 10^9/\text{л}$.

Во всех группах больных (1, 2, 3) выявлена базофилия в лейкограмме: $1,33 \pm 0,33\%$ (гр. 1), $1,4 \pm 0,24\%$ (гр. 2) и $1,33 \pm 0,33\%$ (гр. 3) при референсном диапазоне 0 – 0,5%, а также увеличение абсолютного содержания базофилов: $0,15 \pm 0,04 \times 10^6/\text{л}$ (гр. 1), $0,16 \pm 0,03 \times 10^6/\text{л}$ (гр. 2) и $0,15 \pm 0,04 \times 10^6/\text{л}$ (гр. 3) с

превышением более чем в 2 раза значения верхней границы референсного диапазона $0,0 - 0,065 \times 10^6/\text{л}$.

У базофилов имеется много важных защитных и регуляторных функций, но в данном случае речь может быть о следующем: гранулы базофилов содержат гепарин, фактор анафилаксии, гистамин и фактор хемотаксиса; из кровяного русла базофилы проникают в очаг инфицирования, где происходит дегрануляция и выброс медиаторов, которые вызывают в окружающей ткани усиление кровотока, увеличение проницаемости сосудов, отек и другие проявления воспаления с привлечением нейтрофилов. Таким образом, основная функция базофилов при наружном бактериальном отите заключается в мобилизации остальных гранулоцитов в очаг воспаления.

Наружный бактериальный диффузный отит до настоящего времени представляли преимущественно локальным воспалительным процессом, не вызывающем общей ответной реакции организма [Плужников М.С. и соавт., 2000]. Однако повышение в крови СОЭ и общего содержания лейкоцитов, а также их гранулоцитарной фракции – нейтрофилов как сегментоядерных, так и палочкоядерных, и базофилов свидетельствуют о системной реакции организма на этиологические факторы воспаления наружного уха. Данная реакция должна сопровождаться активацией нескольких механизмов врожденного иммунитета, в том числе продукцией цитокинов [Шиффман Ф. Дж., 2009].

Воспаление непосредственно связано, в первую очередь, с нейтрофилами, которые, как показано в последнее время, экспрессируют практически все известные толл-подобные рецепторы (TLRs). Так, активация рецептора TLR-4 липополисахаридами бактерий индуцирует продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов, таких как IL-1 β , IL-8 и TNF- α , а активация TLR-2 – продукцию MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1). Стимуляция этих рецепторов, а также TLR-9 сопровождается респираторным взрывом и изменением экспрессии молекул адгезии [Бережная Н.М., Сепиашвили Р.И., 2015].

Таким образом, локальное воспаление наружного слухового прохода вызывает череду системных реакций организма, что является обоснованием для применения не только местной антисептической терапии, но и комплексного лечения.

Фагоцитарная активность нейтрофилов

В настоящей работе была изучена фагоцитарная активность нейтрофилов крови в группах исследования при поступлении больных на стационарное лечение. Результаты определения фагоцитарного показателя (%) и фагоцитарного числа (Ед.) позволили обнаружить существенные отличия от показателей контрольной группы (таблица 5.6).

Таблица 5.6 – Фагоцитарная активность нейтрофилов крови в группах исследования до лечения

Группа	Фагоцитарный показатель, %		Фагоцитарное число, Ед	
	M±m	min – max	M±m	min ÷ max
1 (n=32)	45,07 ±1,74	38 – 58	3,11 ±0,14	2,4 ÷4,0
2 (n=36)	36,59 ± 1,43	26 – 44	2,53±0,16	1,7 ÷4,1
3 (n=32)	14,77 ± 1,49	10 – 56	2,28 ±0,10	1,1 ÷3,7
Всего в группах исследования (n=100)	40,91±1,04	26 – 58	2,83±0,09	1,1 ÷4,1
Контрольная группа (n=32)	67,94 ±1,64	48 – 79	6,20±0,15	5,0 ÷7,9
Уровни значимости различий фагоцитарного показателя в группах исследования и контроля				
Группы	2	3	Контрольная группа	
1	p>0,05	p>0,05	p<0,001	
2		p>0,05	p<0,001	
3			p<0,001	

Продолжение таблицы 5.6

Уровни значимости различий фагоцитарного числа в группах исследования и контроля			
Группы	2	3	Контрольная группа
1	$p>0,05$	$p>0,05$	$p<0,001$
2		$p>0,05$	$p<0,001$
3			$p<0,001$

Во всех группах больных БНДО выявлено угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов крови по обоим показателям ($p<0,001$). Наибольший дефицит фагоцитарной активности наблюдался в третьей группе, где среднее значение фагоцитарного показателя статистически значимо снижено по сравнению с группой контроля в 5 раз ($p<0,001$), а фагоцитарного числа – в 2,7 раза ($p<0,001$). Третья группа отличалась от двух других и клиническими проявлениями БНДО – наименьшей частотой повышения температуры тела, что также свидетельствует о снижении общей иммунологической реактивности организма.

В первой и во второй группах по сравнению с контрольной группой средние значения фагоцитарного показателя были ниже в 1,5 и 2 раза соответственно ($p<0,001$), а фагоцитарного числа – в 2 и 2,5 раза соответственно ($p<0,001$). Несмотря на выявленные различия показателей фагоцитарной активности нейтрофилов между группами исследования, они не носили статистически значимого характера ($p>0,05$).

Таким образом, в настоящей работе во всех группах больных бактериальным наружным диффузным отитом отмечено угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов: низкие уровни фагоцитарного показателя ($40,91 \pm 1,04\%$) ($p<0,001$) и фагоцитарного числа ($2,83 \pm 0,09$ Ед.) ($p<0,001$). Полученные результаты позволяют заключить, что нарушение фагоцитарной активности нейтрофилов крови можно рассматривать как один из патогенетических механизмов развития бактериального наружного диффузного отита.

Острофазовые показатели воспаления

В собственном исследовании проведено определение содержания С-реактивного белка в сыворотке крови в группах исследования и в контроле. Повышенный уровень (значение, равное или превышающее 5 мг/л) выявлен у большинства больных БНДО – у 87 человек (87%). Результаты определения С-реактивного белка в сыворотке крови представлены в таблице 5.7.

Таблица 5.7 – Уровни С-реактивного белка в сыворотке крови в группах исследования до лечения

Группа	Частота выявления повышенных значений СРБ, %	Средние значения повышенных уровней СРБ, мг/л	
		$M \pm m$	min ÷ max
1 (n=32)	90,6	$16,78 \pm 1,89$	5 ÷ 42
2 (n=36)	86,1	$16,74 \pm 2,16$	5 ÷ 48
3 (n=32)	84,3	$15,19 \pm 12,24$	5 ÷ 48
Контрольная группа (n=32)	0	<5,0	

Наибольшая частота выявления повышенных значений СРБ определена в группе 1 (90,6%), а наименьшая – в группе 3 (84,3%). Анализ результатов исследований показывает увеличенные уровни СРБ в сыворотке крови у большинства пациентов во всех группах исследования, превосходящие в 3 раза референсные значения. Статистически значимого различия степени повышения СРБ в крови между группами исследования не выявлено ($p > 0,05$). Концентрация 48 мг/л была максимальным значением.

В группах исследования также выполнено определение белка, связывающего липополисахарид (LBP), который наряду с СРБ является представителем группы белков острой фазы воспаления (таблица 5.8). Этот белок, как и следует из его названия, обладает способностью связывать липополисахарид (ЛПС) бактерий. LBP является важным реактантом в системе

врожденного иммунитета, его уровень в крови увеличивается при синдроме системного воспаления, сепсисе, а также при травмах [Кокряков В.Н., 2006; Черношей Д. А. и соавт., 2010]. Дополнительным аргументом в пользу целесообразности определения LBP у больных БНДО является тот факт, что в большей части случаев это заболевание вызывается грамотрицательными бактериями.

Таблица 5.8 – Уровни LBP в группах исследования до лечения, мкг/л

Группы	M ± m	min ÷ max	
1 (n = 32)	18746,7 ± 193,0	7640 ÷ 34140	
2 (n = 36)	24533,5 ± 183,0	16180 ÷ 49540	
3 (n = 32)	26643,9 ± 20,0	18730 ÷ 40800	
Контрольная группа (n = 32)	16943,6 ± 1560,1	5130 ÷ 35130	
Уровни значимости различий LBP в группах исследования и контроля			
Группы	2	3	Контрольная группа
1	p<0,05	p<0,05	p>0,05
2		p>0,05	p<0,01
3			p<0,01

Во всех группах исследования выявлено повышение содержания LBP в крови по сравнению с группой контроля, однако различия оказались статистически значимыми только для групп 2 и 3 (p<0,01). Факт повышенной продукции LBP при БНДО соответствует представлениям о его роли в воспалительном ответе на бактериальную инфекцию [Кокряков В.Н., 1999; 2006; Scott M.G. et al., 2000].

В целях определения степени местной и общей реакции системы врожденного иммунитета на бактериальную инфекцию при БНДО были определены уровни LBP в капиллярной крови из мочки больного уха в группах

больных. Результаты исследований и сопоставление их с уровнями LBP в венозной крови представлены в таблице 5.9.

Таблица 5.9 – Сравнение уровней LBP в венозной и капиллярной крови (из мочки больного уха) в группах исследования, мкг/л

Группа 1		Группа .2		Группа 3		Контрольн я группа
Венозная	Капиллярн ая	Венозная	Капиллярн ая	Венозная	Капиллярн ая	Венозная
18746,71± 193	18356± 1903,93	24533,5± 183	31741± 2676,92	26643,9± 20	34583± 2443,63	16943,6± 1560,1

Представленные данные свидетельствуют о том, что средние значения LBP в венозной и капиллярной крови в группе 1 были практически одинаковыми ($p>0,05$). В группах 2 и 3 средние значения LBP были выше в капиллярной крови, однако эти различия не были статистически значимыми ($p>0,05$). Но и системный, и локальный уровни LBP в крови у больных статистически значимо превышали его средний уровень в венозной крови у представителей контрольной группы ($p<0,01$).

Таким образом, у больных БНДО в крови увеличено содержание белков острой фазы: СРБ и LBP. Причем уровень LBP выше в капиллярной крови в месте воспаления. Эти факты отражают адекватную реакцию организма на воспалительный процесс бактериальной этиологии в коже наружного слухового прохода. Наряду с увеличением продукции белков острой фазы воспаления, являющимися гуморальными факторами врожденного иммунитета, наблюдается угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов крови – важных участников защитных реакций врожденного иммунитета.

Антимикробные белки и пептиды крови

В настоящем исследовании выполнено определение α -дефенсинов (HNP 1-3) и β -дефенсинов (hBD-2) в плазме крови у больных бактериальным наружным диффузным отитом (таблица 5.10).

Таблица 5.10 – Содержание α - и β -дефенсинов в плазме крови в группах исследования до лечения, нг/мл

Группа	HNP 1-3 (α -дефенсины)		hBD-2 (β -дефенсин)	
	M \pm m	min \div max	M \pm m	min \div max
1 (n = 32)	1067,86 \pm 309,6	39,2 \div 3453,9	1,35 \pm 0,29	0,1 \div 3,3
2 (n = 36)	1592,82 \pm 545,6	390,7 \div -9157,8	2,98 \pm 1,25	0,7 \div 22,6
3 (n = 32)	1799,15 \pm 29,03	117,3 \div 4616,2	1,87 \pm 0,36	0,4 \div 4,2
Контрольная группа (n = 32)	185 \pm 28,8	41,4 \div 468,8	0,66 \pm 0,08	0,1 \div 1,5
Уровни значимости различий α -дефенсинов в группах исследования и контроля				
Группы	2	3	Контрольная группа	
1	p>0,05	p>0,05	p< 0,001	
2		p>0,05	p< 0,001	
3			p< 0,001	
Уровни значимости различий β -дефенсина в группах исследования и контроля				
Группы	2	3	Контрольная группа	
1	p>0,05	p>0,05	p>0,05	
2		p>0,05	p< 0,001	
3			p< 0,001	

Во всех группах больных БНДО при поступлении на стационарное лечение выявлены повышенные уровни HNP 1-3 (α -дефенсинов) по сравнению с группой контроля (p<0,001). Определение β -дефенсина (hBD-2) также показало

увеличение его средних значений у всех больных БНДО, но у пациентов группы 1 уровень hBD-2 не имел статистически значимых различий с группой контроля, а в группах 2 и 3 его увеличение имело статистически значимый характер ($p < 0,001$). Между группами исследования наибольшее повышение HNP 1-3 (α -дефенсинов) отмечено в группе 3, несколько меньшее в группе 2 и еще меньшее в группе 3. Однако эти различия не носили статистически значимого характера ($p > 0,05$).

Максимальное среднее значение β -дефенсина (hBD-2) в крови выявлено в группе – $22,98 \pm 1,25$ нг/мл, у больных которой был наиболее выражен болевой синдром (оталгия). Степень выраженности болевого синдрома «интенсивная» (максимальная) присутствовала у 86,1% группы. Несколько меньший уровень hBD-2 зарегистрирован в группе 3, больные которой в 65,6% случаев имели «интенсивную» степень выраженности оталгии. Минимальное среднее значение hBD-2 определено в группе 1 с наименьшей частотой «интенсивной» степени болевого синдрома – 14,3%.

Таким образом, у больных БНДО выявлена корреляция выраженности болевого синдрома (оталгии) и уровня β -дефенсина (hBD-2) в крови. Болевой синдром является отражением развития воспаления, в первую очередь отека, видимо, поэтому продукция и уровень антимикробного белка hBD-2 в крови соответствует степени воспалительного процесса.

Анализ результатов исследований, выполненных в настоящей работе, показал их соответствие представлению о роли α - и β -дефенсинов в системе врожденного иммунитета, в частности об участии этой группы антимикробных пептидов в воспалительных заболеваниях кожи. Помимо прямого бактерицидного действия α - и β -дефенсины выполняют еще ряд важных функций, среди которых усиление адгезии Т-лимфоцитов к клеткам кожи, индукция экспрессии костимуляторных молекул на кератиноцитах, стимуляция пролиферации и дифференцировки кератиноцитов, защита тканей от аутоповреждения системой комплемента посредством блокирования ее ранней фазы активации [Кокряков В.Н. и соавт., 2006; Будихина Л.С., Пинегин В.В., 2008; Levy O., 2004; Niyonsaba F. et al., 2007; Yoshioka S. et al., 2007].

Увеличение продукции α - и β -дефенсинов является защитной системной реакцией на бактериальную инфекцию, в том числе и при бактериальном наружном диффузном отите.

В настоящем исследовании выполнено определение антимикробных катионных белков кателицидина LL-37 и BPI-белка в плазме крови у больных бактериальным наружным диффузным отитом (таблица 5.11).

Определение кателицидина LL-37 также показало увеличение его средних значений у всех больных БНДО. Однако у пациентов группы 1 уровень LL-37 не имел статистически значимых различий с группой контроля, а в группах 2 и 3 его увеличение имело статистически значимый характер ($p < 0,001$ и $p < 0,01$ соответственно). Между группами исследования наибольшее повышение LL-37 отмечено в группе 2 по сравнению с группами 1 и 3 ($p < 0,01$), несколько меньшее, но не имеющее статистически значимого различия с группой 1 ($p > 0,05$), – в группе 3 и еще меньшее – в группе 1.

Таблица 5.11 – Содержание кателицидина LL-37 и BPI-белка в плазме крови в группах исследования до лечения, нг/мл

Группа	LL-37, мкг/мл		BPI-белок, пг/мл	
	$M \pm m$	min ÷ max	$M \pm m$	min ÷ max
1 (n = 32)	$3,0 \pm 0,62$	1,1 ÷ 10,9	$29145,1 \pm 427,0$	5440 ÷ 64200
2 (n = 36)	$14,9 \pm 5,9$	1,6 ÷ 70,7	$37273,4 \pm 658,0$	9480 ÷ 100284
3 (n = 32)	$6,7 \pm 1,34$	0,6 ÷ 13,1	$25394,2 \pm 624,0$	4572 ÷ 70284
Контрольная группа (n=32)	$2,85 \pm 0,12$	2,2 ÷ 4,3	$2949,4 \pm 324,7$	572 ÷ 8620

Продолжение таблицы 5.11

Уровни значимости различий LL-37 в группах исследования и контроля			
Группы	2	3	Контрольная группа
1	$p < 0,01$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
2		$p < 0,01$	$p < 0,001$
3			$p < 0,01$
Уровни значимости различий ВРІ-белка в группах исследования и контроля			
Группы	2	3	Контрольная группа
1	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,001$
2		$p > 0,05$	$p < 0,001$
3			$p < 0,001$

Новым методическим подходом, не описанным в литературе, было определение содержания LL-37 в капиллярной крови, забранной в месте (мочка уха), наиболее близко находящемся к очагу бактериального воспаления. В целях определения степени местной и общей реакции системы врожденного иммунитета на бактериальную инфекцию при БНДО были определены уровни кателицидина LL-37 в мочке больного уха (капиллярная кровь) и в венозной крови в группах больных. Результаты исследований представлены в таблице 5.12.

Таблица 5.12 – Сравнение уровней кателицидина LL-37 в венозной и капиллярной крови (из мочки больного уха) в группах исследования до лечения, мкг/мл

Группа 1		Группа .2		Группа 3		Контрольная группа
Венозная кровь	Капиллярная кровь	Венозная кровь	Капиллярная кровь	Венозная кровь	Капиллярная кровь	Венозная кровь
3,0±0,62	0,06±0,017	14,9±5,9	0,07±0,025	6,66±1,34	0,06±0,007	2,86±0,12

Сравнительный анализ уровня антимикробного пептида LL-37 в венозной и капиллярной крови (из мочки больного уха) у больных бактериальным наружным диффузным отитом показал, что его уровень в капиллярной крови (из мочки больного уха) в десятки и сотни раз меньше, чем в венозной крови. При этом различия в уровнях кателицидина LL-37 между группами, выявленные в венозной крови, нивелируются в капиллярной крови ($p > 0,05$). Можно предположить, что происходит это в результате эффекта мишени – связывания LL-37 в очаге бактериального воспаления, удаленного от места взятия крови (мочки уха).

Анализ результатов определения катионных антимикробных белков, выполненного в настоящей работе, показал их полное соответствие данным литературы. В частности сведениям о повышении уровня BPI-белка в крови при инфекционном воспалении [Ярыгин А.А., 2010]. Увеличение продукции BPI-белка на ранней стадии заболевания обеспечивает подавление размножения грамотрицательных бактерий, а также избыточной продукции провоспалительных цитокинов и активации нейтрофилов, вызванных присутствием липополисахаридов бактерий [Кокряков В.Н., 2006]. У больных БНДО во всех группах исследования выявлены в крови уровни BPI-белка, десятикратно превышающие таковые в группе контроля ($p < 0,001$).

Результаты проведенных исследований позволили оценить состояние важных факторов системы врожденного иммунитета – антимикробных белков и пептидов при бактериальном наружном диффузном отите. Обнаружено изменение уровней в венозной крови данной группы реактантов системы иммунитета в сторону увеличения, но происходит это в разной степени для каждого антимикробного белка и пептида.

Начало бактериального наружного диффузного отита сопровождается у всех больных статистически значимым повышением в крови уровней α -дефенсинов (HNP 1-3) и BPI-белка, что является закономерной реакцией макроорганизма в условиях угнетения фагоцитоза нейтрофилов крови [Хаитов Р.М. и соавт., 2009].

В отношении β -дефенсина hBD-2 и кателицидина LL-37 также отмечено увеличение их уровней у большинства больных бактериальным наружным диффузным отитом. При этом степень увеличения этих антимикробных пептидов положительно коррелировала со степенью тяжести клинического течения заболевания. Постепенное начало болезни с меньшей остротой проявлений сопровождалось уровнями β -дефенсина hBD-2 и кателицидина LL-37 в венозной крови, близкими к таковым в группе контроля. Наблюдение показало, что в анамнезе таких пациентов присутствовали рецидивы наружного отита.

Провоспалительные цитокины

Изучение воспалительной реакции организма человека на инфекцию, определение ее вариантов и оценка степени адекватности в настоящее время требует исследования состояния системы цитокинов. Эта группа полипептидных биологически активных информационных молекул является медиаторами межклеточных взаимодействий, «Цитокины синтезируются клетками различных тканей человека в ответ на экзогенные стимулы, такие как патоген-ассоциированные молекулярные структуры (паттерны) практически всех типов микроорганизмов» [Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека // Медицинский академический журнал. – 2013. – Т. 13, № 3. – С. 19].

Учитывая, что этиологическим фактором патологии, изучаемой в настоящей работе, является бактериальная микрофлора, было проведено исследование в крови больных БНДО представителей подгруппы провоспалительных цитокинов. Наиболее значимым комплексом провоспалительных цитокинов являются IL-1 β , IL-6 и TNF- α [Сбойчаков В.Б. и соавт., 2015]. Повышение концентрации этой триады провоспалительных цитокинов в тканях служит маркером местного воспалительного ответа при гнойно-деструктивных процессах и коррелирует с выраженностью местной воспалительной реакции [Симбирцев А.С., 2013]. Результаты определения содержания IL-1 β , IL-6 и TNF- α в крови у больных БНДО представлены в таблице 5.13.

Таблица 5.13 – Содержание провоспалительных цитокинов в крови больных БНДО до лечения

Цитокины	Группы исследования			Контрольная группа (n = 32)
	1 (n = 32)	2 (n = 36)	3 (n = 32)	
IL-1β, пг/мл	4,11 ±0,33	5,14 ±0,89	4,4 ±0,68	6,37 ±0,43
IL-6, пг/мл	4,34± 0,46	11,66 ± 1,49	11,23 ±1,67	2,95 ±0,11
TNF-α, пг/мл	2,11 ± 0,29	3,78 ± 1,08	2,59 ± 0,39	3,01 ±0,2
Уровни значимости различий IL-1β в группах исследования и контроля				
Группы	2	3	Контрольная группа	
1	p>0,05	p>0,05	p< 0,01	
2		p>0,05	p>0,05	
3			p< 0,01	
Уровни значимости различий IL-6 в группах исследования и контроля				
Группы	2	3	Контрольная группа	
1	p< 0,001	p< 0,001	p< 0,01	
2		p>0,05	p< 0,001	
3			p< 0,001	
Уровни значимости различий TNF-α в группах исследования и контроля				
Группы	2	3	Контрольная группа	
1	p>0,05	p>0,05	p>0,05	
2		p>0,05	p>0,05	
3			p>0,05	

Выявлено снижение средних значений провоспалительного цитокина IL-1 β в крови у всех больных БНДО по сравнению с группой контроля. Однако статистически значимыми указанные различия были для групп 1 и 3 ($p < 0,01$ и $p < 0,01$ соответственно).

В ответ на внедрение инфекционного патогена продукция IL-1 β в организме возрастает, что среди прочих факторов врожденного иммунитета обеспечивает активацию противоинфекционной защиты. Высокий острофазовый ответ сопровождается повышением температуры тела и увеличением в крови СРБ, LBP, а также IL-1 β и других цитокинов. Недостаточная продукция IL-1 β может быть одной из причин неэффективного ответа системы иммунитета с формированием хронического и/или рецидивирующего воспалительного инфекционного процесса. Вместе с тем, даже у больных сепсисом не во всех исследованиях выявлен повышенный уровень IL-1 β [Симбирцев А.С., 2004; 2011; 2013].

При рассмотрении характера показателей системы врожденного иммунитета, изученных в настоящей работе, обращает на себя внимание тот факт, что повышение в крови острофазового белка СРБ происходит не у всех больных (в 84,3% – 90,6% случаев в разных группах исследования), а средние значения LBP, хотя и статистически оценены повышенными по сравнению с группой контроля, но находятся в диапазоне значений, выявленных в группе контроля. Учитывая такую картину острофазового ответа, отсутствие повышения уровня IL-1 β , и даже статистически значимое снижение его в крови по сравнению с группой контроля, может рассматриваться как специфическое отличие иммунологической реакции организма при БНДО или исходным преморбидным фоном, явившимся одним из этиологических факторов наружного отита.

В отличие от IL-1 β обнаружено увеличение продукции IL-6 во всех группах больных БНДО, которое статистически значимо превышает таковую в группе контроля. По данным А.С. Симбирцева (2013), «наиболее высокая степень корреляции с клинической картиной сепсиса получена при исследованиях уровней IL-6 Именно концентрация в плазме крови IL-6 ... могла быть критерием для прогнозирования исхода заболевания. Уровень этого цитокина

также хорошо коррелировал с другими маркерами септического процесса: С-реактивным белком ... и ФНО» (Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека // Медицинский академический журнал. – 2013. – Т. 13, № 3. – С. 19). Таким образом, при БНДО, как и при других воспалительных процессах инфекционного бактериального генеза, повышение уровня IL-6 в крови отражает адекватную активную реакцию системы врожденного иммунитета.

Уровень TNF- α в крови у больных БНДО при поступлении на стационарное лечение не имел статистически значимых различий как с контрольной группой, так и между группами исследования ($p>0,05$). Причиной этого может быть снижение активности системы врожденного иммунитета при БНДО, на фоне которой и развивается бактериальное воспаление кожи наружного слухового прохода.

Таким образом, клиническая картина начала бактериального наружного отита характеризуется повышенным уровнем в крови IL-6 и отсутствием роста продукции IL-1 β и TNF- α . IL-1 β является эндогенным (вторичным) пирогеном, который продуцируется лейкоцитами в ответ на экзогенные (первичные) пирогены. Повышение температуры тела в клинической картине БНДО на фоне отсутствия увеличения продукции IL-1 β , вероятно, может происходить в результате активации других защитных механизмов, в том числе с участием IL-6.

Иммуноглобулины в крови

В настоящей работе выполнено исследование состояния антителогенеза основных классов иммуноглобулинов. В крови больных БНДО определено содержание общих иммуноглобулинов IgA, IgM и IgG (таблица 5.14).

Большинство результатов исследований общих иммуноглобулинов в крови у больных БНДО укладывается в референсные диапазоны, но все их средние значения статистически значимо ниже по сравнению с группой контроля.

Таблица 5.14 –Содержание общих иммуноглобулинов в крови больных БНДО, М ± m

Классы Ig	Группы исследования			Контрольная группа (n = 32)	Референсные значения
	1 (n = 32)	2 (n = 36)	3 (n = 32)		
IgA, г/л	0,88 ± 0,08	0,85 ± 0,07	0,63 ± 0,04	2,56 ± 0,17	0,8-4,0
IgM, г/л	0,80 ± 0,12	0,50 ± 0,05	0,40 ± 0,04	1,33 ±0,09	0,48-2,0
IgG, г/л	6,60 ± 0,42	6,72 ± 0,43	5,80 ± 0,48	13,15 ± 0,35	4,8-16,0
Уровни значимости различий IgA в группах исследования и контроля					
Группы	2		3	Контрольная группа	
1	p>0,05		p>0,05	p< 0,001	
2			p>0,05	p< 0,001	
3				p< 0,001	
Уровни значимости различий IgM в группах исследования и контроля					
Группы	2		3	Контрольная группа	
1	p<0,05		p<0,05	p< 0,01	
2			p>0,05	p< 0,001	
3				p< 0,001	
Уровни значимости различий IgG в группах исследования и контроля					
Группы	2		3	Контрольная группа	
1	p>0,05		p>0,05	p< 0,001	
2			p>0,05	p< 0,001	
3				p< 0,001	

Содержания иммуноглобулинов М в группе 3 оказалось меньше нижней границы нормы. Так, при нижней границе референсного диапазона IgM 0,5 г/л среднее значение его содержания в крови у больных группы 3 составило только $0,40 \pm 0,04$ г/л. На нижней границе нормы находился уровень иммуноглобулина А в группе 1 и уровни иммуноглобулинов М и G в группе 2.

При сравнении результатов исследований, полученных во всех группах больных, с результатами в контрольной группе выявлено существенное статистически значимое ($p < 0,001$) снижение уровней в крови всех иммуноглобулинов основных классов (IgA, IgM и IgG). Между группами больных различие обнаружено только в уровнях IgM. Содержание этого иммуноглобулина в группах 2 и 3 было статистически значимо ниже, чем в группе 1 ($p < 0,05$).

Степень снижения концентрации классов иммуноглобулинов в крови больных БНДО была различной. Зарегистрировано наибольшим падение уровня IgA, среднее значение которого было в 3 раза ниже контрольного. Содержание иммуноглобулина IgG было в 2 раза ниже, чем в группе контроля. Именно эти классы иммуноглобулинов характеризуются среди прочих свойств антимикробным и антитоксическим действием.

В результате определения в крови больных БНДО общего иммуноглобулина Е в 47% случаев выявлено его статистически значимое повышение (таблица 5.15).

В группах больных БНДО частота выявления повышенных уровней общего иммуноглобулина Е в крови была приблизительно одинаковой (46,9 – 47,2%). В 1, 2 и 3 группах средние значения содержания общего IgE были статистически значимо выше, чем в группе контроля ($p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,01$ соответственно). Между группами исследования статистически значимых различий не выявлено.

Выявлена отрицательная корреляция показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови и уровня общего IgE как для фагоцитарного показателя – $r_{sp} = -0,38$, так и для фагоцитарного числа – $r_{sp} = -0,42$ ($p < 0,05$).

Таблица 5.15 – Общий иммуноглобулин Е в крови больных БНДО до лечения, МЕ/мл

Группа	$M \pm m$	min ÷ max	Повышенные значения, %
1 (n = 32)	$73,47 \pm 22,96^*$	11 ÷ 373,2	46,9
2 (n = 36)	$122,91 \pm 31,72^{**}$	4,4 ÷ 389,9	47,2
3 (n = 32)	$95,57 \pm 29,03^*$	14,4 ÷ 394,7	46,9
Контрольная группа (n = 32)	$28,2 \pm 3,11$	8,1 ÷ 69,0	0
Уровни значимости различий общего IgE в группах исследования и контроля			
Группы	2	3	Контрольная группа
1	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,01$
2		$p > 0,05$	$p < 0,001$
3			$p < 0,01$

5.3. Динамика микробного пейзажа очага воспаления и показателей иммунитета на фоне проведенного лечения бактериального наружного диффузного отита

После проведения курсов лечения у всех больных БНДО наблюдалось улучшение клинической картины. Вместе с тем, эффективность терапии сразу после ее окончания и в отдаленные сроки в группах исследования различалась. В частности в группе 1 (традиционная терапия) длительность госпитализации ($11,13 \pm 0,63$ койко-дней) была статистически значимо больше ($p < 0,001$) чем в группах 2 (традиционная терапия + аутогемотерапия) и 3 (традиционная терапия + фитотерапия). При этом наименьшая длительность лечения была в группе 2 – $7,75 \pm 0,46$ койко-дней против $8,38 \pm 0,43$ койко-дней в группе 3.

Микробный пейзаж очага воспаления

Исследование микробной флоры проводили на 10-й день после первичного обследования. Результаты микробиологических исследований, выполненных после проведенных курсов терапии, представлены в таблице 5.16.

Таблица 5.16 – Бактериальная флора очага воспаления в наружном слуховом проходе в группах исследования после проведенных курсов терапии

Бактериальная флора	Группа 1 (n = 19 «+» из 32)*		Группа 2 (n = 8 «+» из 36)*		Группа 3 (n = 7 «+» из 32)*		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>Staph. aureus</i>	8	25,0	1**	2,8**	2**	63,0**	11	11,0
<i>Staph. epidermidis</i>	6	18,8	6	16,7	4	12,5	16	16,0
<i>Ps. aeruginosa</i>	5	15,6	1**	2,8**	1**	3,1**	7	7,0
Итого	19	59,4	8	22,2	7	21,9	34	34,0

Примечание: * – указано число пациентов с выявленным ростом микрофлоры «+» из общего числа пациентов в группе;

** – статистическая значимость различий показателей группы 2 и 3 по сравнению с группой 1 $p < 0,01$.

Результаты первичных бактериологических исследований показали отсутствие роста микрофлоры у 7 пациентов (7%) (раздел 5.1, таблица 5.3). В результате проведенных курсов лечения этот показатель вырос почти в 10 раз – до 66%. При этом видовой состав и характеристики микрофлоры, выявленной у 34 пациентов (34,0%) значительно изменились. Так, при поступлении больных на стационарное лечение в подавляющей части случаев (93%) выявлена различная моно- и полифлора.

После проведенных курсов терапии у пациентов была выявлена только монофлора, представленная, преимущественно, стафилококками. При этом

значительно снизилась высеваемость патогенной грамотрицательной флоры, в т.ч. синегнойной палочки до 7% против 69% при первичном исследовании.

Помимо снижения высеваемости *Pseudomonas aeruginosa* выявлено изменение ее лекарственной устойчивости. Так, если при первичном исследовании у всех больных имелась резистентность синегнойной палочки к гентамицину и левомицетину, то после лечения к этим антибиотикам появилась чувствительность *Pseudomonas aeruginosa*, высеянной только в группах 2 и 3.

В группах исследования после лечения оказалась различной и высеваемость бактерий. Так, *Pseudomonas aeruginosa* выделена только у 7 больных, большинство из которых – 5 человек принадлежали к группе 1. Всего микрофлора выявлена у пациентов группы 1 в 59,4% случаев против 22,2% и 21,9% в группах 2 и 3 ($p<0,01$).

Кроме того, в группе 1 *St. aureus* высевался в 25% случаев, что превышает значение 5-22%, соответствующее микрофлоре здоровой кожи наружного слухового прохода [Нобл У.К., 1986]. У пациентов групп 2 и 3 частота высеваемости золотистого стафилококка после лечения составила 2,8% и 6,3% соответственно, что находится на нижнем пороге указанного диапазона.

Таким образом, в результате дополнительного применения местной аутогемотерапии или фитотерапии настоем чистотела в лечении больных БНДО статистически значимо повышается степень эрадикации патогенной микрофлоры в очаге воспаления ($p<0,05$) и формируется чувствительность синегнойной палочки к гентамицину и левомицетину.

Клинический анализ крови

Клинические анализы крови больным были выполнены на 6-й и 10-й дни лечения. Клинические субъективные и объективные данные свидетельствовали о более быстром купировании бактериального воспаления кожи наружного слухового прохода в группах 2 и 3. Динамика показателей клинического анализа крови представлена в таблицах 5.17 и 5.18.

Таблица 5.17 – Динамика изменения лейкоцитарных показателей и СОЭ в группах исследования на 6-й день лечения

Аналит		Группа 1 (n=32)			Группа 2 (n=36)			Группа 3 (n=32)			Рефе- ренсные значе- ния	
		до лечения	Статис- тическая значи- мость различий, t	6-й день	до лечения	Статис- тическая значи- мость различий, t	6-й день	до лечения	Статис- тическая значи- мость различий, t	6-й день		
Лейкоциты, 10 ⁹ /л		11,56 ±0,54	p>0,05	10,48 ± 0,44	11,27 ±0,58	p<0,01	7,44 ± 0,2	11,77 ±0,47	p<0,01	7,49 ±0,26	4-8	
Нейтрофилы	палоч- коядер- ные	%	4,25 ± 0,38	p<0,05	3,41 ±0,3	3,19 ±0,35	p<0,05	2,56 ± 0,22	4,69 ± 0,50	p<0,01	2,22 ±0,21	1-6
		10 ⁹ / л	0,49±0,04	p<0,05	0,36±0,03	0,36±0,04	p<0,01	0,19±0,01	0,53±0,06	p<0,01	0,16±0,01	0,04-0,3
	сегмен- тоядер- ные	%	67,03 ± 1,44	p>0,05	64,0±1,25	65,69 ±1,71	p>0,05	61,58 ± 1,49	64,47 ± 1,25	p>0,05	58,91 ± 1,44	47-72
		10 ⁹ / л	7,75±0,17	p>0,05	6,71±0,13	7,40±0,19	p<0,05	4,58±0,11	7,27±0,14	p<0,05	4,41±0,10	2,0-5,5
Эозинофи- лы		%	2,14 ±0,38	p>0,05	2,81 ±0,41	2,55±0,44	p>0,05	2,21 ± 0,32	4,14±0,54	p>0,05	3,13 ±0,41	0,5-5
		10 ⁹ / л	0,25±0,04	p>0,05	0,29±0,04	0,29±0,05	p<0,05	0,16±0,02	0,47±0,06	p<0,01	0,23±0,03	0,02-0,3

Продолжение таблицы 5.17.

Базофилы	%	1,33±0,33	p>0,05	1,0 ±0,1	1,4 ±0,24	p>0,05	1,17 ± 0,17	1,33±0,33	p>0,05	1,25 ±0,25	0-0,5
	10 ⁹ / л	0,15±0,04	p>0,05	0,10±0,01	0,16±0,03	p<0,05	0,08±0,01	0,15±0,04	p<0,05	0,09±0,01	0,0- 0,065
Лимфо- циты	%	22,59 ± 1,38	p>0,05	26,19 ± 1,08	24,03 ±1,5	p>0,05	29,42 ± 1,39	22,84 ± 1,3	p<0,05	30,41 ± 1,24	19-38
	10 ⁹ / л	2,61±0,16	p>0,05	2,74±0,11	2,71±0,17	p>0,05	2,18±0,10	2,57±0,15	p>0,05	2,27±0,09	1,2-3,0
Моноциты	%	5,03 ± 0,45	p>0,05	5,38 ± 0,45	5,56 ± 0,58	p>0,05	5,34 ± 0,54	5,09 ± 0,45	p>0,05	5,69 ±0,47	3-11
	10 ⁹ / л	0,58± 0,05	p>0,05	0,56±0,05	0,63± 0,07	p>0,05	0,39±0,04	0,57± 0,05	p>0,05	0,42±0,03	0,09-0,6
СОЭ по Панченкову, мм/ч		25,03 ± 1,85	p>0,05	20,94 ±1,21	19,11 ± 1,21	p<0,05	14,14 ±0,79	24,00 ± 1,86	p<0,05	17,09 ± 1.14	2-15

Сравнение результатов клинических анализов крови, выполненных до начала лечения и на 6-й день после, показало следующую динамику параметров лейкоцитов и СОЭ в группах исследования. Во всех группах произошло уменьшение средних значений общего содержания лейкоцитов в крови, но в группе 1 оно не было статистически значимым ($p > 0,05$), а в группах 2 и 3 оно не только имело статистически значимый характер, но и произошло снижение средних значений до референсных: от $11,27 \pm 0,58$ до $7,44 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,01$) и от $11,77 \pm 0,47$ до $7,49 \pm 0,26 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,01$) соответственно.

Аналогичная динамика отмечена и в изменениях СОЭ. Также во всех группах больных произошло уменьшение средних значений СОЭ, но статистически значимым оно было в группах 2 ($p < 0,05$) и 3 ($p < 0,05$). При этом достижение нормальных (референсных) значений отмечено только в группе 2: от $19,11 \pm 1,21$ до $14,14 \pm 0,79$ мм/ч.

В субпопуляциях лейкоцитов также отмечена положительная динамика. В лейкоцитарной формуле палочкоядерного сдвига в процентах по-прежнему не наблюдалось. При этом произошло статистически значимое снижение долей палочкоядерных нейтрофилов во всех группах больных ($p < 0,05$, $p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно). Абсолютное содержание также статистически значимо уменьшилось во всех группах с достижением референсного диапазона в группах 2 и 3: от $0,36 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ до $0,19 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,01$) и от $0,53 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ до $0,16 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,01$) соответственно при норме до $0,3 \times 10^9/\text{л}$.

Доля сегментоядерных нейтрофилов по-прежнему была в референсных пределах и претерпела уменьшение средних значений во всех группах больных, но изменения не были статистически значимыми ($p > 0,05$). В абсолютном содержании сегментоядерных нейтрофилов также наблюдается положительная динамика. Но в группе 1 снижение среднего значения не было статистически значимым ($p > 0,05$) и по-прежнему осталось на уровне, превышающем норму, а в группах 2 и 3 средние значения абсолютного содержания сегментоядерных нейтрофилов статистически значимо снизились до нормальных значений: от

$7,40 \pm 0,19 \times 10^9/\text{л}$ до $4,58 \pm 0,11 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$) и от $7,27 \pm 0,14 \times 10^9/\text{л}$ до $4,41 \pm 0,10 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$) соответственно при референсном диапазоне $2,0 - 5,5 \times 10^9/\text{л}$.

В группе 3 до лечения наблюдалось увеличение абсолютного содержания эозинофилов. На 6-й день терапии произошла статистически значимая нормализация этого показателя: от $0,47 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ до $0,23 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,01$) при референсном диапазоне $0,02 - 0,3 \times 10^9/\text{л}$.

На фоне проводимого лечения всех больных БНДО отмечено уменьшение базофилии как в процентах, так и в абсолютных значениях, но уровни остались превышающими норму. Статистически значимым было снижение только абсолютного содержания базофилов в крови и только во 2-й ($p < 0,05$) и 3-й ($p < 0,05$) группах.

Сравнение результатов клинических анализов крови, выполненных больным БНДО на 6-й и 10-й день после начала лечения, показало сохранение положительной динамики параметров лейкоцитов и СОЭ (таблица 5.18).

В группах исследования продолжилось уменьшение средних значений общего содержания лейкоцитов в крови, но в группах 2 и 3 оно не было статистически значимым ($p > 0,05$), а в группе 1 оно имело статистически значимый характер, но превышение нормального значения сохранилось: от $10,48 \pm 0,44 \times 10^9/\text{л}$ до $8,64 \pm 0,23 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$) при верхней границе референсного диапазона $8,0 \times 10^9/\text{л}$.

В субпопуляциях лейкоцитов также сохранилась тенденция к нормализации показателей. В лейкоцитарной формуле палочкоядерного сдвига в процентах по-прежнему не происходило. Наблюдалось продолжение снижения процентного содержания палочкоядерных нейтрофилов во всех группах больных, но изменения не были статистически значимыми ($p > 0,05$).

На 10-й день после лечения в группе 1 произошло статистически значимое снижение и нормализация абсолютного содержания сегментоядерных нейтрофилов: от $6,71 \pm 0,13 \times 10^9/\text{л}$ до $5,15 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$) при референсном диапазоне $2,0 - 5,5 \times 10^9/\text{л}$. Показатели эозинофилов в группах 1 и 2 на 10-й день не изменились, а в группе 3, где изначально абсолютное содержание эозинофилов

Таблица 5.18 – Динамика изменения лейкоцитарных показателей и СОЭ в группах исследования на 10-й день лечения

Аналит		Группа 1 (n=32)			Группа 2 (n=36)			Группа 3 (n=32)			Рефе- ренсные значения	
		6-й день	Статис- тическая значи- мость различий, t	10-й день	6-й день	Статис- тическая значи- мость различий, t	10-й день	6-й день	Статис- тическая значи- мость различий, t	10-й день		
Лейкоциты, 10 ⁹ /л		10,48 ± 0,44	p<0,05	8,64 ± 0,23	7,44 ± 0,2	p>0,05	6,91 ±0,11	7,49 ±0,26	p>0,05	7,02 ±0,14	4-8	
Нейтрофилы	палоч- коядер- ные	%	3,41 ±0,3	p>0,05	2,72 ±0,19	2,56 ± 0,22	p>0,05	1,94 ±0,13	2,22 ±0,21	p>0,05	1,88 ±0,15	1-6
		10 ⁹ / л	0,36±0,03	p<0,05	0,23±0,01	0,19±0,01	p>0,05	0,13±0,01	0,16±0,01	p>0,05	0,13±0,01	0,04-0,3
	сегмен- тоядер- ные	%	64,0±1,25	p>0,05	59,72 ±1,13	61,58 ± 1,49	p>0,05	57,53 ±0,8	58,91 ± 1,44	p>0,05	55,59 ± 0,73	47-72
		10 ⁹ / л	6,71±0,13	p<0,05	5,15±0,09	4,58±0,11	p>0,05	3,98±0,06	4,41±0,10	p>0,05	3,90±0,05	2,0-5,5
Эозино- филы	%	2,81 ±0,41	p>0,05	2,8 ± 0,49	2,21 ± 0,32	p>0,05	2,21 ±0,32	3,13 ±0,41	p>0,05	1,64 ±0,31	0,5-5	
	10 ⁹ / л	0,29±0,04	p>0,05	0,24±0,04	0,16±0,02	p>0,05	0,15±0,02	0,23±0,03	p<0,05	0,12±0,02	0,02-0,3	

Продолжение таблицы 5.18.

Базофилы	%	1,0 ±0,1	p>0,05	1,5 ±0,5	1,17 ± 0,17	p>0,05	1,17 ±0,17	1,25 ±0,25	p>0,05	2,5 ± 0,5	0-0,5
	10 ⁹ /л	0,10±0,01	p>0,05	0,13±0,04	0,08±0,01	p>0,05	0,08±0,01	0,09±0,01	p>0,05	0,18±0,04	0,0-0,065
Лимфо-циты	%	26,19 ± 1,08	p>0,05	29,72 ± 0,79	29,42 ± 1,39	p>0,05	33,83 ± 0,57	30,41 ± 1,24	p>0,05	34,19 ±0,62	19-38
	10 ⁹ /л	2,74±0,11	p>0,05	2,57 ± 0,07	2,18±0,10	p>0,05	2,34±0,04	2,27±0,09	p>0,05	2,40±0,04	1,2-3,0
Моноциты	%	5,38 ± 0,45	p>0,05	6,63 ± 0,48	5,34 ± 0,54	p>0,05	5,28 ± 0,44	5,69 ±0,47	p>0,05	7,5 ± 0,5	3-11
	10 ⁹ /л	0,56±0,05	p>0,05	0,57±0,04	0,39±0,04	p>0,05	0,36±0,03	0,42±0,03	p>0,05	0,53±0,04	0,09-0,6
СОЭ по Панченкову, мм/ч		20,94 ±1,21	p<0,05	16,59 ±0,66	14,14 ±0,79	p<0,05	11,19 ±0,45	17,09 ± 1,14	p<0,05	12,31 ±0,59	2-15

было повышенным, продолжилось статистически значимое снижение уровня: от $0,23 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$ до $0,12 \pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$).

Во всех группах больных продолжалось уменьшение уровня СОЭ, оно было статистически значимым также во всех группах ($p < 0,05$). При этом достижение нормальных (референсных) значений отмечено в группе 3: от $17,09 \pm 1,14$ мм/ч до $12,31 \pm 0,59$ мм/ч. В группе 1 СОЭ на 10-й день продолжала быть выше нормы – $16,59 \pm 0,66$ мм/ч, а в группе 2 она нормализовалась на 6-й день.

На 10-й день во всех группах больных БНДО динамика показателей базофилов отсутствовала. Сохранялась базофилия как в процентах, так и в абсолютных значениях.

Таким образом, на фоне проводимого лечения и положительной динамики клинической картины заболевания у больных БНДО происходила нормализация показателей клинического анализа крови. На 6-й день наибольшее количество повышенных параметров достигло нормальных значений в группе 2 (традиционное лечение + местная аутогемотерапия). На 10-й день в группах 2 (традиционное лечение + местная аутогемотерапия) и 3 (традиционное лечение + фитотерапия) наблюдалась нормализация всех повышенных показателей за исключением базофилов. Во всех группах, как указано выше, сохранялись признаки базофилии. В группе 1 (традиционное лечение) остались повышенными средние значения содержания в крови лейкоцитов и СОЭ.

Уменьшение абсолютного содержания было статистически значимым только в группе 1 с достижением нормального значения: от $0,36 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$ до $0,23 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$) при референсном диапазоне $0,04 - 0,3 \times 10^9/\text{л}$.

Фагоцитарная активность нейтрофилов крови

После проведенных курсов лечения у больных БНДО была проведена также оценка фагоцитарной активности нейтрофилов крови. Полученные результаты исследований в сравнении с исходными данными представлены в таблице 5.19.

Таблица 5.19 – Динамика фагоцитарной активности нейтрофилов крови у больных бактериальным наружным диффузным отитом в результате различных видов терапии, $M \pm m$

Группа	Фагоцитарный показатель, %			Фагоцитарное число, Ед.		
	до лечения	Статистическая значимость различий, t	после лечения	до лечения	Статистическая значимость различий, t	после лечения
1 (n=32)	45,07 \pm 1,74	p<0,001	39,47 \pm 1,08	3,11 \pm 0,14	p<0,001	2,80 \pm 0,15
2 (n=36)	36,59 \pm 1,43	p<0,001	48,12 \pm 1,50	2,53 \pm 0,16	p<0,001	3,89 \pm 0,17
3 (n=32)	14,77 \pm 1,49	p<0,001	48,10 \pm 1,47	2,28 \pm 0,10	p<0,001	3,72 \pm 0,20
Контрольная группа (n=32)	67,94 \pm 1,64			6,20 \pm 0,15		

В группе 1 (традиционное лечение) в результате проведенного курса терапии отмечено подавление фагоцитарной активности нейтрофилов крови. При поступлении на стационарное лечение в этой группе было выявлено статистически значимое снижение средних значений фагоцитарного показателя (ФП) и фагоцитарного числа (ФЧ) по сравнению с группой контроля ($p<0,001$). Исходные показатели после лечения стали статистически значимо еще ниже. Так, если первоначально фагоцитарный показатель составлял $45,07 \pm 1,74\%$, то после терапии – $39,47 \pm 1,08\%$ ($p<0,001$). Аналогично произошло и снижение фагоцитарного числа: от $3,11 \pm 0,14$ Ед. до $2,8 \pm 0,15$ Ед. ($p<0,001$).

Негативная динамика показателей фагоцитарной активности нейтрофилов, вероятно, обусловлена побочным иммуносупрессивным действием антимикробных лекарственных средств и прямым иммуносупрессивным действием нестероидных противовоспалительных препаратов, используемых в терапии наружных отитов [Янов Ю.К., Антушева И.А., 2004, Никулин Б.А., 2008].

В группах 2 (традиционная терапия + местная аутогемотерапия) и 3 (традиционная терапия + фитотерапия) зарегистрировано повышение фагоцитарной активности нейтрофилов. Так, в группе 2 фагоцитарный показатель исходно составлял $36,59 \pm 1,43\%$, а после лечения увеличился до $48,12 \pm 1,50\%$ ($p < 0,001$). Аналогичный рост отмечен и фагоцитарного числа – от $2,53 \pm 0,16$ Ед. до $3,89 \pm 0,17$ Ед. ($p < 0,001$).

В группе 3 (больные вместе с традиционным лечением получали настой чистотела) исследование фагоцитоза выполняли на 7-й день лечения, и после окончания фитотерапии (на 30-й день). В этой группе исходно были зарегистрированы наиболее низкие значения показателей фагоцитоза, статистически значительно различающиеся с группами 1 ($p < 0,001$) и 2 ($p < 0,001$). На 7-й день проводимого лечения у пациентов группы 3 выявлен статистически значимый рост фагоцитарного показателя от $14,77 \pm 1,49\%$ до $48,10 \pm 1,47\%$ ($p < 0,001$), а также фагоцитарного числа – от $2,28 \pm 0,10$ Ед. до $3,72 \pm 0,20$ Ед. ($p < 0,001$). На 30-й день лечения после окончания фитотерапии также отмечена дальнейшая положительная динамика показателей фагоцитоза. Так, фагоцитарный показатель от уровня $48,10 \pm 1,47\%$, определенного на 7-й день лечения, достиг на 30-й день значения, близкого к таковому в контрольной группе, – $52,08 \pm 1,2\%$ ($p < 0,001$), а фагоцитарное число увеличилось от $3,72 \pm 0,20$ Ед. до $4,22 \pm 0,12$ Ед. ($p < 0,001$).

Полностью нормализация фагоцитарной активности нейтрофилов в результате лечения произошла только у части больных, при этом не по обоим показателям и неодинаково в группах исследования. Так, если в группе 1 фагоцитарный показатель нормализовался у 13,3% больных, то в группах 2 и 3 – у 70,6% и 84,6% пациентов соответственно, что значительно больше. Значения фагоцитарного числа имели положительную динамику у всех больных в группах 2 и 3, но все же не достигли уровня контрольной группы ($p < 0,001$).

Указанный феномен обусловлен мягким регуляторным воздействием местной аутогемотерапии и настоя чистотела на систему врожденного иммунитета, что позволяет избежать резкой активации защитных механизмов,

приводящей к их истощению, в условиях вторичного иммунодефицита на фоне воспалительного процесса бактериальной этиологии.

Белки острой фазы воспаления

В результате определения в крови С-реактивного белка у больных БНДО при поступлении на стационарное лечение его повышенный уровень обнаружен у 87 человек (87%). У них была изучена динамика уровня СРБ на 6-е и 10-е сутки после начала лечения. Результаты исследований представлены в таблице 5.20. У остальных пациентов исходно нормальные уровни СРБ сохранялись в течение всего курса лечения и обследования.

Таблица 5.20 – Динамика уровней СРБ в крови у больных БНДО в результате различных видов терапии, мг/л

Группа	До лечения		Статистическая значимость различий, t	На 6-е сутки		Статистическая значимость различий, t	На 10-е сут.	
	M±m	min – max		M±m	min – max		M±m	min – max
1 (у 29 из 32)	16,78 ± 1,89	5 ÷ 42	p<0,001	11,35 ± 1,75	0 ÷ 48	p<0,001	4,32 ± 0,53	0 ÷ 12
2 (у 31 из 36)	16,74 ± 2,16	5 ÷ 48	p<0,001	4,11 ± 0,65	0 ÷ 12	p<0,001	1,31 ± 0,29	0 ÷ 6
3 (у 27 из 32)	15,19 ± 12,24	5 ÷ 48	p<0,001	4,94 ± 0,92	0 ÷ 24	p<0,001	1,50 ± 0,35	0 ÷ 6

Анализ полученных данных показывает, что во всех группах больных БНДО на фоне проводимого лечения прослеживалось статистически значимое снижение уровней СРБ в крови от исходно повышенных до нормальных на 10-е сутки. К 6-м суткам уровень СРБ нормализовался у 48,3% больных всех групп. Пациенты с повышенными значениями СРБ распределились по группам следующим образом: большинство – 57,8% больных были из группы 1, а остальные 24,4% и 17,7% человек были из групп 2 и 3 соответственно.

На 10-й день нормализация СРБ в крови была отмечена уже у 80,5% больных всех групп. В группах 2 и 3 выявлено только по 2 человека в каждой с повышенными уровнями СРБ. При этом их значения были минимальными (6 мг/л). Напротив, в группе 1 было 13 больных с повышенным СРБ со значениями до 12 мг/л.

Таким образом, динамика СРБ в крови больных в результате традиционной терапии в сочетании с местной аутогемотерапией или фитотерапией отличалась статистически значимо более ранним и более существенным снижением этого показателя. У значительной части пациентов группы 1 высокие уровни СРБ сохранились на момент окончания лечения, тогда как в группах 2 и 3 они у большинства больных нормализовались к 6-му и полностью – к 10-му дню лечения. Отсутствие в крови маркера и предиктора процесса воспаления является показателем более эффективной терапии.

Определение в крови белка, связывающего липополисахарид, (LBP) было выполнено больным БНДО при поступлении на стационарное лечение и после проведенных курсов терапии. Сравнение результатов определения этого белка острой фазы воспаления представлено в таблице 5.21.

Таблица 5.21 – Динамика уровней LBP в венозной крови при бактериальном наружном диффузном отите в результате различных видов терапии, нг/мл

Группа	До лечения	Статистическая значимость различий, t	После лечения
1 (n=32)	18746,7 ± 193	p>0,05	17245,33 ± 1386,38
2 (n=36)	24533,5 ± 183*	p<0,01	17838,82 ± 1196,39
3 (n=32)	26643,9 ± 20*	p<0,01	12562,31 ± 1158,64
Контрольная группа (n=32)	16943,6 ± 1560,10		

Примечание: * – статистически значимые различия уровней LBP с группой контроля (p < 0,01)

При первичном обследовании у больных группы 1 было выявлено повышение уровня LBP по сравнению с группой контроля, однако оно не было статистически значимым ($p>0,05$). В результате традиционного лечения произошло снижение среднего значения этого острофазового белка, но различие также не было статистически значимым ($p>0,05$).

Напротив, у больных в группах 2 и 3 исходно были статистически значимо повышенные уровни LBP в крови ($p<0,01$). В процессе лечения в этих группах произошло статистически значимое снижение ($p<0,01$) средних значений этого показателя до уровней, близких таковому в контрольной группе.

В группу 1 были включены больные с менее выраженными клиническими проявлениями БНДО. Это нашло отражение в меньшей стимуляции синтеза LBP в процессе воспалительного ответа организма на бактериальную инфекцию. Более тяжелое клиническое течение БНДО в группах 2 и 3 сопровождалось более высокой продукцией LBP, которая снизилась на фоне выздоровления. Тем не менее, во всех группах больных в результате проведенных курсов терапии зарегистрирована положительная динамика содержания этого острофазового белка.

Динамика LBP в крови у больных БНДО в процессе лечения свидетельствует о большей эффективности комплексной терапии, включающей местную аутогемотерапию и фитотерапию.

Для оценки местного характера реакции системы врожденного иммунитета организма при бактериальном наружном диффузном отите были определены уровни LBP в капиллярной крови (из мочки больного уха) в группах исследования после проведенных курсов терапии (таблица 5.22).

Сравнительный анализ уровней LBP в венозной и капиллярной крови у больных БНДО, представленный в разделе 5.2, показал, что в группе 1 его содержание в венозной и капиллярной крови было одинаковым. В группах 2 и 3 средние значения LBP были выше в капиллярной крови, однако эти различия не были статистически значимыми ($p>0,05$). Но и системный, и локальный уровни

LBP в крови статистически значимо превышали его средний уровень в венозной крови у представителей контрольной группы ($p<0,01$).

Таблица 5.22 – Динамика содержания LBP в капиллярной крови (из мочки больного уха) у больных БНДО в результате различных видов терапии, нг/мл

Группа	До лечения	Статистическая значимость различий, t	После лечения
1 (n=32)	18 356,7 ± 1 903,93	$p>0,05$	19 900,4 ± 2 869,83
2 (n=36)	31 741 ± 2 676,92	$p<0,05$	17 666,84 ± 2 032,13
3 (n=32)	34 583 ± 2 443,63	$p<0,01$	9 507,69 ± 1 072,30
Контрольная группа (n=32)	16 943,6 ± 1 560,10 (венозная кровь)		

У больных в группе 1 статистически значимых различий уровней LBP в капиллярной крови до и после лечения не обнаружено ($p>0,05$). Влияние комплексной терапии на локальный уровень LBP отчетливо прослеживалась у больных, в курс лечения которых была включена местная аутогемотерапия или фитотерапия. В группах 2 и 3 выявлено статистически значимое снижение содержания LBP в капиллярной крови ($p<0,05$ и $p<0,01$ соответственно) до его уровня в венозной крови в группе контроля. У пациентов, которым проводилась фитотерапия, степень снижения LBP была более выраженной. Таким образом, динамика содержания LBP в венозной и капиллярной крови (на системном и локальном уровнях) была идентичной. Но исходный уровень LBP непосредственно в очаге воспаления в группах 2 и 3 был статистически значимо выше, чем в венозной крови.

Антимикробные белки и пептиды

В работах, посвященных исследованию антимикробных белков и пептидов, имеются данные о повышении в крови уровней дефенсинов у больных при различных воспалительных заболеваниях кожи. Исходно и у больных БНДО

реакция системы врожденного иммунитета проявлялась аналогичным образом. После окончания курсов лечения было повторно выполнено определение HNP 1-3 и hBD-2 в крови у пациентов в группах исследования. Динамика содержания указанных дефенсинов в результате лечения представлена в таблице 5.23.

Таблица 5.23 – Динамика уровней дефенсинов в крови у больных бактериальным наружным диффузным отитом в результате различных видов терапии, нг/мл

Группа	HNP 1-3			hBD-2		
	до лечения	Статистическая значимость различий, t	после лечения	до лечения	Статистическая значимость различий, t	досле лечения
1 (n=32)	1067,86 ±309,6*	p<0,001	1636,03 ±410,98*	1,35 ± 0,29	p<0,05	3,26 ±1,33*
2 (n=36)	1592,82 ±545,60*	p<0,001	506,12 ±76,00*	2,98 ±1,25*	p<0,001	1,64 ±0,24*
3 (n=32)	1799,15 ±29,03*	p<0,001	517,78 ±101,41*	1,87 ±0,36*	p<0,001	0,51 ±0,13
Контрольная группа (n=32)	185,00 ±28,8			0,66 ±0,08		

Примечание: * – статистическая значимость различия от группы контроля p<0,001

Первичное обследование больных БНДО показало во всех группах статистически значимое повышение в крови содержания α-дефенсинов (HNP 1-3). Уровни β-дефенсиона hBD-2 также были повышены во всех группах, но статистически значимое различие с группой контроля отмечено только в группах 2 и 3 (p<0,001).

В результате проведенных курсов терапии в группах исследования наблюдалась различная динамика дефенсинов. Так, в первой группе (традиционная терапия) уровни α- и β-дефенсинов статистически значимо

увеличились ($p < 0,001$ и $p < 0,05$ соответственно) по сравнению с результатами первичного обследования. В группах 2 и 3, напротив, наблюдалось понижение средних значений HNP 1-3, которые при этом оставались статистически значимо выше, чем в группе контроля людей ($p < 0,001$). Содержание в крови hBD-2 в этих группах также снизилось. При этом в группе 2 в результате сочетания традиционного лечения с местной аутогемотерапией снижение β -дефенсина было статистически значимым ($p < 0,001$), но не достигало значений группы контроля. Включение фитотерапии в курс традиционного лечения сопровождалось полной нормализацией уровня hBD-2 в крови ($p < 0,001$).

Такая разнонаправленность динамики дефенсинов в крови в процессе лечения больных БНДО, вероятно, обусловлена дополнительными эффектами воздействия на характер воспаления, которыми обладают местная аутогемотерапия и фитотерапия настоем чистотела. Учитывая более позитивную динамику клинической картины БНДО у больных в группах 2 и 3, снижение уровней дефенсинов следует расценивать как свидетельство купирования воспалительного процесса и выздоровления. Напротив, повышение уровней антимикробных пептидов в крови пациентов группы 1 является признаком пролонгации воспалительного процесса или, учитывая позитивную динамику клинической картины наружного отита, некоего финального подъема активности системы врожденного иммунитета.

Первичное обследование больных БНДО в группе 1 показало увеличение среднего значения катионного белка кателицидина LL-37 в крови по сравнению с группой контроля, но различие не было статистически значимым ($p > 0,05$). В совокупности с меньшими, чем в группах 2 и 3, степенями увеличения уровней α - и β -дефенсинов и статистически незначимым повышением LBP этот факт характеризует реакцию системы врожденного иммунитета как недостаточную. Вместе с тем, именно у больных группы 1 наблюдалось наименьшее угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов крови по сравнению с группами 2 и 3, а уровни СРБ и лейкоцитоза были такими же.

В группах 2 и 3 исходное повышение содержания кателицидина LL-37 в крови было статистически значимым ($p < 0,001$ и $p < 0,01$ соответственно).

После выполненных в группах исследования курсов лечения больным было проведено определение в венозной крови LL-37 и ВРІ-белка (таблица 5.24).

Таблица 5.24 – Динамика содержания кателицидина LL-37 и ВРІ-белка в венозной крови у больных БНДО в результате различных видов терапии

Группа	LL-37, мкг/мл			ВРІ-белок, пг/мл		
	до лечения	Статистическая значимость различий, t	после лечения	до лечения	Статистическая значимость различий, t	после лечения
1 (n=32)	30,2 ± 6,18	$p > 0,05$	34,03 ± 7,72	29145,1 ± 427**	$p < 0,001$	39565,07 ± 7575,36**
2 (n=36)	149,6 ± 59,7**	$p < 0,001$	91,65 ± 14,64**	37273,4 ± 658**	$p < 0,001$	22839,53 ± 5712,65**
3 (n=32)	66,6 ± 13,4*	$p < 0,001$	30,86 ± 7,41	25394,2 ± 624**	$p < 0,001$	7602,77 ± 2255,61**
Контрольная группа (n=32)	28,5 ± 1,19			2949,4 ± 324,7		

Примечание: * – статистическая значимость различия с группой контроля, $p < 0,01$;

** – статистическая значимость различия с группой контроля, $p < 0,001$.

На фоне проведения курса традиционной терапии уровень LL-37 в крови больных БНДО несколько увеличился, но это изменение не было статистически значимым ($p > 0,05$). В результате дополнительного включения местной аутогемотерапии и фитотерапии исходно повышенные уровни LL-37 в группах 2 и 3 статистически значимо снизились ($p < 0,001$). При этом, в группе 2 его среднее

значение оставалась выше, чем в группе контроля ($p < 0,001$), а в группе 3 применение фитотерапии обусловило снижение LL-37 до уровня группы контроля ($p > 0,05$).

Для оценки местного характера реакции системы врожденного иммунитета организма при бактериальном наружном диффузном отите были определены уровни кателицидина LL-37 в моче больного уха (капиллярная кровь) в группах исследования после проведенных курсов терапии (таблица 5.25).

Таблица 5.25 – Динамика содержания кателицидина LL-37 в моче больного уха (капиллярная кровь) у больных БНДО в результате различных видов терапии, мкг/мл

Группа	до лечения	Статистическая значимость различий, t	после лечения
1 (n=32)	0,59± 0,17	$p > 0,05$	0,60± 0,14
2 (n=36)	0,70± 0,25	$p > 0,05$	0,84±0,21
3 (n=32)	0,63± 0,07	$p > 0,05$	0,67±0,10
Контрольная группа (n=32)	28,5 ± 1,19 (венозная кровь)		

Сравнительный анализ уровня антимикробного пептида LL-37 в венозной и капиллярной крови у больных БНДО, представленный в разделе 5.2, показал, что его уровень в капиллярной крови (из мочки больного уха) в десятки и сотни раз меньше, чем в венозной крови. В результате исследований, выполненных после проведенных курсов лечения, динамики не выявлено ($p > 0,05$).

Исходное содержание ВРІ в крови у больных БНДО во всех группах было в 10 – 15 раз выше, чем в группе контроля ($p < 0,001$). Этот факт свидетельствует об активной антимикробной реакции системы врожденного иммунитета на бактериальную инфекцию при наружном диффузном отите.

После проведения курсов терапии у больных группы 1 наблюдалось статистически значимое повышение в крови уровня ВРІ ($p < 0,001$). Подобные изменения в группе, получавшей традиционное лечение, выявлены и в отношении α - и β -дефенсинов. Такая динамика антимикробных белков и пептидов является свидетельством неполной эрадикации патогенных бактерий в очаге инфекции, что подтверждается результатами бактериологических исследований.

Применение местной аутогемотерапии и фитотерапии сопровождалось обратной динамикой. В группах 2 и 3 выявлено статистически значимое снижение уровней ВРІ ($p < 0,001$), что, в свою очередь, свидетельствует о санации очага воспаления, подтверждаемой также повторными бактериологическими исследованиями.

Общие иммуноглобулины

Анализ результатов первичного обследования больных БНДО, представленных в разделе 5.2 (таблица 5.14), выявил в группе 3 пониженное содержание в крови иммуноглобулинов М. В группе 2 уровень иммуноглобулинов М равнялся минимальному значению референсного диапазона. Остальные значения иммуноглобулинов попадали в референсный диапазон, но были близки к его нижней границе. Указанные данные свидетельствуют о состоянии вторичной иммунной недостаточности у больных в группах 2 и 3.

Исследования в крови общих иммуноглобулинов были проведены у больных БНДО повторно после проведенного лечения (таблица 5.26).

Анализ полученных данных показывает, что в группе 1 после традиционного лечения произошло уменьшение средних значений всех классов общих иммуноглобулинов, но различие не было статистически значимым ($p > 0,05$). При этом уровни IgA, IgM и IgG остались в пределах референсных диапазонов. Напротив, в группах больных, которым применялась аутогемотерапия или фитотерапия, отмечено увеличение содержания в крови всех классов иммуноглобулинов. Различие значений было статистически значимым в группе 2 для IgM ($p < 0,05$), при этом значение после лечения вошло в

референсный диапазон. В группе 3 различие значений было статистически значимым для IgM ($p < 0,05$) и IgG ($p < 0,05$), и также значение IgM после лечения вошло в референсный диапазон.

Таблица 5.26 – Динамика содержания общих иммуноглобулинов в крови при бактериальным наружном диффузном отите до и после лечения в результате различных видов терапии, $M \pm m$

Классы Ig	Группы исследования						Контроль- ная группа (n = 32)	Рефе- ренсные значени я
	1 (n = 32)		2 (n = 36)		3 (n = 32)			
	до лечения	после лечения	до лечени я	после лечения	до лечения	после лечения		
IgA, г/л	0,88 ± 0,08**	0,67± 0,04**	0,85 ± 0,07**	0,821± 0,07**	0,63 ± 0,04**	0,79± 0,05**	2,56 ± 0,17	0,8-4,0
IgM, г/л	0,80 ± 0,12*	0,63 ±0,41 **	0,50 ± 0,05**	0,7± 0,17**	0,40 ± 0,04**	0,75± 0,1**	1,33 ±0,09	0,48-2,0
IgG, г/л	6,60 ± 0,42**	6,33± 0,04**	6,72 ± 0,43**	7,04± 0,32**	5,80 ± 0,48**	7,57± 0,3**	13,15 ± 0,35	4,8-16,0

Примечание: * – статистическая значимость различия с группой контроля, $p < 0,01$;

** – статистическая значимость различия с группой контроля, $p < 0,001$.

Таким образом, в результате проведения курсов лечения с аутогемотерапией или фитотерапией происходит нормализация уровней иммуноглобулинов классов IgM и IgG в крови.

Определение уровней общего IgE в крови больных бактериальным наружным отитом при первичном обследовании выявило у 47% пациентов их статистически значимое повышение по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$) (раздел 5.2, таблица 5.15). Исследования в крови общего IgE были выполнены у больных БНДО повторно после проведенного лечения (таблица 5.27).

Таблица 5.27 – Динамика содержания общего IgE в крови у больных бактериальным наружным диффузным отитом в результате различных видов терапии, МЕ/мл

Группа	до лечения	Статистическая значимость различий, t	после лечения
1 (n=32)	73,47 ± 22,96*	p>0,05	78,49± 22,96*
2 (n=36)	122,91 ±31,72***	p>0,05	110,95± 35,44***
3 (n=32)	95,57 ± 29,03**	p<0,01	39,26± 15,03
Контрольная (n=32)	28,2 ± 3,11		

Примечание: * – статистическая значимость различия с группой контроля, p<0,05;

** – статистическая значимость различия с группой контроля, p < 0,01.

*** – статистическая значимость различия с группой контроля, p < 0,001.

Анализ полученных данных показывает, что в группе 1 (традиционное лечение) произошло некоторое увеличение среднего значения общего IgE, но различие не было статистически значимым (p>0,05). Напротив, в группе 2 (традиционное лечение + местная аутогемотерапия) и группе 3, получавшей дополнительно к традиционному лечению фитотерапию настоем чистотела, выявлено снижение общего IgE, но статистически значимыми эти изменения были только в группе 3 (p<0,01). При этом среднее значение IgE в группе 3 приблизилось к таковому в группе контроля (p>0,05).

Эта динамика общего IgE выявлена на фоне нормализации пониженных до лечения уровней общих иммуноглобулинов классов М и G у больных групп 2 и 3, что подтверждает собственное предположение о компенсаторном характере увеличения общего IgE в ответ на гипоиммуноглобулинемию при воспалительной патологии инфекционного генеза.

Отрицательная корреляция уровня общего иммуноглобулина IgE в крови и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови ($p < 0,05$), выявленная при первичном обследовании больных БНДО, также присутствовала и после лечения: $r_{sp} = -0,54$ для фагоцитарного показателя и $r_{sp} = -0,49$ для фагоцитарного числа.

Провоспалительные цитокины

Первичное изучение цитокинового статуса у больных БНДО (раздел 5.2, таблица 5.13) показало, что клиническая картина начала бактериального наружного отита характеризуется повышенным уровнем в крови IL-6 и отсутствием роста продукции IL-1 β и TNF- α . Результаты повторного определения в крови провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α у больных БНДО после проведенных курсов терапии представлены в таблице 5.28.

Исходное снижение средних значений провоспалительного цитокина IL-1 β в крови у всех больных БНДО по сравнению с группой контроля в результате проведенных курсов терапии претерпело следующие изменения. В группе 1 (традиционное лечение) уровень IL-1 β остался прежним, статистически значимо пониженным по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$).

Напротив, в группах 2 (традиционное лечение + местная аутогемотерапия) и 3 (традиционное лечение + фитотерапия) выявлено повышение уровня IL-1 β , но статистически значимым различие было только в группе 2. В этой же группе среднее значение IL-1 β в крови стало равным таковому в контрольной группе.

Тенденция роста продукции IL-1 β до нормальных уровней в группах 2 и 3 соответствует позитивной динамике клинической картины заболевания у этих пациентов, свидетельствует о восстановлении адекватного ответа системы иммунитета и большей эффективности комплексной терапии, включающей местную аутогемотерапию или фитотерапию настоем чистотела, по сравнению с традиционным лечением.

В отличие от IL-1 β направленность динамики IL-6 у больных БНДО была противоположной. Так, в группе 1 отмечено дальнейшее увеличение уровня IL-6, но выявленное различие не было статистически значимым. Напротив, в группах 2

Таблица 5.28 – Динамика уровней провоспалительных цитокинов в крови у больных бактериальным наружным диффузным отитом в результате различных видов терапии, $M \pm m$

Группа	IL-1 β , пг/мл			IL-6, пг/мл			TNF- α , пг/мл		
	до лечения	Статис- тическая значи- мость различий, t	после лечения	до лечения	Статис- тическая значи- мость различий, t	после лечения	до лечения	Статис- тическая значи- мость различий, t	после лечения
1 (n=32)	4,11 \pm 0,33*	p>0,05	4,08 \pm 0,45**	4,34 \pm 0,46*	p>0,05	5,48 \pm 0,60**	2,11 \pm 0,29	p>0,05	3,36 \pm 0,98
2 (n=36)	5,14 \pm 0,89	p<0,01	6,7 \pm 1,08	11,66 \pm 1,49**	p<0,001	3,38 \pm 0,26	3,78 \pm 1,08	p<0,01	1,74 \pm 0,27*
3 (n=32)	4,4 \pm 0,68*	p>0,05	5,25 \pm 0,99	11,23 \pm 1,67**	p<0,001	2,39 \pm 0,09	2,59 \pm 0,39	p<0,001	0,98 \pm 0,19**
Контроль- ная группа (n=32)	6,37 \pm 0,43			2,95 \pm 0,11			3,01 \pm 0,2		

Примечание: * – статистическая значимость различия с группой контроля, p<0,01;

** – статистическая значимость различия с группой контроля, p < 0,001.

и 3 отмечено статистически значимое снижение уровней IL-6 до нормальных значений ($p < 0,001$). Такая динамика IL-6 адекватна процессам нормализации уровней острофазовых белков (СРБ и LBP), антимикробных белков и пептидов и фагоцитарной активности нейтрофилов крови у больных в группах 2 и 3 в результате лечения.

Дальнейшее увеличение уровня IL-6 у больных группы 1 после проведенного лечения происходило на фоне ухудшения показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови, роста уровней α - и β -дефенсинов, кателицидина LL-37 и BPI-белка, что указывает на неполное восстановление гомеостаза системы иммунитета в результате традиционной терапии.

Исходное содержание TNF- α в крови у больных БНДО не имело статистически значимых различий как с контрольной группой, так и между группами исследования ($p > 0,05$). Отсутствие продукции TNF- α могло быть неблагоприятным фактором, на фоне которого развивалось бактериальное воспаление кожи наружного слухового прохода. В результате проведенных курсов лечения содержание TNF- α в крови у больных группы 1 не претерпело статистически значимых изменений и осталось на уровне группы контроля. В группах 2 и 3 выявлено статистически значимое снижение TNF- α как по сравнению с его уровнем до лечения, так и с группой контроля ($p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно).

Таким образом, в результате традиционной терапии у пациентов группы 1 выявлено повышение в крови содержания IL-6. Этот факт свидетельствует о продолжении воспалительного процесса в наружном слуховом проходе, несмотря на положительную динамику клинической картины заболевания. У больных, получавших дополнительно местную аутогемотерапию и фитотерапию настоем чистотела, произошла нормализация сниженных исходно уровней IL-1 β , а также снижение повышенных до лечения уровней IL-6 и TNF- α . Такая динамика провоспалительных цитокинов свидетельствует о более выраженном противовоспалительном и иммунорегуляторном эффекте методов местной

аутогемотерапии и фитотерапии настоем чистотела по сравнению с традиционным лечением бактериального наружного диффузного отита.

ГЛАВА 6. ВЛИЯНИЕ ЛАТЕНТНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА ХРОНИЧЕСКУЮ ПАТОЛОГИЮ ЛИМФОЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ГЛОТОЧНОГО КОЛЬЦА У ДЕТЕЙ, ОСЛОЖНЕННУЮ ЭКССУДАТИВНЫМ СРЕДНИМ ОТИТОМ

Проведено клиническое и лабораторное обследование 176 больных с верифицированным диагнозом «экссудативный средний отит», «хронический лимфопролиферативный синдром», обоего пола – 106 мальчиков (60%) и 70 девочек (40%), в возрасте от 2 до 7 лет.

6.1. Маркеры латентных инфекций у больных экссудативным средним отитом

В ходе исполнения настоящей работы у больных секреторным средним отитом были определены в сыворотке крови специфические антитела к возбудителям латентных инфекций: ВЭБ, цитомегаловирусу, микоплазме пневмонии и хламидофиле пневмонии.

Методом ИФА были исследованы специфические антитела классов М и G к антигенам ВЭБ: IgG к NA (нуклеарному/ядерному антигену), IgG к EA (раннему антигену), IgM и IgG к VCA (вирусному капсидному антигену), антитела классов М и G к вирусным белкам ЦМВ, антитела классов А, М, G к *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae*. Полученный профиль антител был использован для определения стадии инфекций.

Для определения стадии ВЭБ-инфекции применяли следующий алгоритм оценки профилей специфических антител в крови обследуемых (таблица 6.1).

Таблица 6.1 – Профили специфических антител, характерные для стадий ВЭБ-инфекции [Куртасова Л.М., 2005]

Стадия инфекции	Специфические антитела к белкам ВЭБ			
	EBNA IgG	VCA IgG	EA IgG	VCA IgM
Отсутствие инфекции или большая часть инкубационного периода (от 30 до 50 сут.)	—	—	—	—
Первичная инфекция, ранняя стадия	—	—	—	+
Первичная инфекция, острая стадия	—	++++	++	++
Недавно (менее 6 месяцев) перенесенная первичная инфекция (ранняя паст-инфекция)	—	++++	++	+
Перенесённая инфекция (паст-инфекция, более 6 месяцев)	+	+++	+/-	—
Хроническая инфекция или ее реактивация	-/+	++++	+++	-/+

Согласно указанным критериям оценки профилей специфических антител к белкам ВЭБ было выполнено распределение больных экссудативным средним отитом (ЭСО) по стадиям ВЭБ-инфекции. У части пациентов выявлены только маркеры ВЭБ-инфекции. Результаты исследований, проведенных у этих пациентов, представлены в таблице 6.2.

Анализ результатов исследований, представленных в таблице 6.2, показал, что у больных ЭСО, имеющих маркеры только ВЭБ-инфекции, чаще всего (в 80% случаев) диагностировалась неактивная стадия – поздняя паст-инфекция. Эта стадия характеризовалась у детей старше 6 лет наличием в крови двух видов специфических антител: класса IgG к ядерному (нуклеарному) антигену NA и класса IgG к вирусному капсидному антигену VCA, а у детей старше 7 лет – одного вида специфических антител класса IgG к ядерному (нуклеарному)

антигену NA.

Таблица 6.2 – Частота выявления больных ЭСО, имеющих только маркеры ВЭБ-инфекции

Стадии ВЭБ-инфекции	абс.	%	(95%ДИ)
Ранняя паст-инфекция	4	16,0	(4,54%; 36,08%)
Реактивация	1	4,0	(0,1%; 20,35%)
Поздняя паст-инфекция	20	80,0	(59,3%; 93,17%)
Общее число больных, имеющих только маркеры ВЭБ-инфекции	25	14,20	(9,41%;20,25%)
Общее число обследованных больных	176	100,00	

Стадия ранней паст-инфекции, недавно (менее 6 месяцев) перенесенной первичной инфекции, была выявлена в 16% случаев (4 чел.) и характеризовалась присутствием в крови различных комбинаций специфических антител, которые не всегда соответствовали профилям, представленным в таблице 6.1. Так, у 2 пациентов был определен классический профиль с наличием специфических антител класса IgM и IgG к вирусному капсидному антигену VCA, а также класса IgG к раннему антигену EA. У 2 других пациентов наблюдались следующие варианты иммуносерологических профилей:

- 1) IgG к VCA и IgG к EA;
- 2) IgM и IgG к вирусному капсидному антигену VCA.

Реактивация ВЭБ-инфекции была выявлена только у 1 пациента (4%). Спектр специфических антител в крови в этом случае характеризовался наличием IgG к NA (ядерному/нуклеарному антигену), класса IgG к VCA (вирусному капсидному антигену) и класса IgG к EA (раннему антигену).

При оценке результатов исследований на присутствие в крови антител к цитомегаловирусу ориентировались на следующие положения. Выявление антител класса IgM к белкам цитомегаловируса является свидетельством острой

инфекции. Наличие только IgM анти-ЦМВ – признак первичной острой инфекции. По истечению 4 – 5 мес. происходит элиминация антител класса М и начало продукции антител класса G.

После перенесенной первичной острой ЦМВ-инфекции возможна реактивация латентной инфекции или реинфекция экзогенным вирусом. Обнаружение и IgM, и IgG анти-ЦМВ может быть свидетельством как первичной, так и реинфекции (реактивации).

Продукция иммуноглобулинов класса IgG в организме продолжается в течение длительного времени, что не всегда позволяет определить стадию заболевания. В этих случаях информативен анализ авидности специфических антител. Первичное инфицирование характеризуется наличием у больных в крови антител с низкой авидностью, а переход в латентную фазу течения инфекции специфические антитела приобретают высокоавидные свойства [Макарова М.Е., 1996].

Кроме определения авидности специфических антител информативна и оценка их титра. Так, после первичного инфицирования или активизации инфекционного процесса титры IgG растут (увеличение в 4 и более раз относительно начального уровня), потом отмечается их постепенное снижение в течение длительного времени.

Согласно указанным критериям оценки профилей специфических антител к ЦМВ было выполнено распределение больных ЭСО по стадиям ЦМВ-инфекции. У части пациентов выявлены только маркеры ЦМВ-инфекции. Результаты исследований, проведенных у этих пациентов, представлены в таблице 6.3.

У больных ЭСО, имеющих маркеры только ЦМВ-инфекции, чаще всего (в 92% случаев), диагностировалась неактивная стадия (поздняя паст-инфекция, вирусоносительство), характеризующаяся содержанием в крови исключительно специфических антител к ЦМВ класса IgG. Стадия реактивации ЦМВ-инфекции выявлялась только в 8% случаев по наличию анти-ЦМВ классов IgM и IgG. Признак первичной инфекции – анти-ЦМВ класса IgM – не были выявлены.

Таблица 6.3 – Частота выявления больных ЭСО, имеющих только маркеры ЦМВ-инфекции

Стадии ЦМВ-инфекции	абс.	%	(95%ДИ)
Реактивация	2	8,00	(0,98%; 26,03%)
Вирусоносительство, поздняя паст-инфекция	23	92,00	(73,97%; 99,02%)
Всего больных, имеющих только маркеры ЦМВ-инфекции	25	14,20	(9,41%;20,25%)
Общее число обследованных больных ЭСО	176	100,00	

Пациентов с наличием маркеров только микоплазменной (*Mycoplasma pneumoniae*) или хламидофилезной (*Chlamydophila pneumoniae*) инфекций выявлено не было.

Результаты сочетанного выявления маркеров скрытых инфекции у больных ЭСО представлены в таблице 6.4.

Таблица 6.4 – Частота выявления сочетаний маркеров скрытых инфекций в крови у больных ЭСО

Маркеры инфекций	абс.	%	(95%ДИ)
только ВЭБ + только ЦМВ + микст: ВЭБ+ЦМВ	98	55,68	(48,02%; 63,15%)
микст: <i>Mycoplasma pn.</i> + <i>Chlamydophila pn.</i>	9	5,11	(2,36%; 9,49%)
микст: ВЭБ+ЦМВ+ <i>Mycoplasma pn.</i> и/или <i>Chlamydophila pn.</i>	45	25,57	(19,30%; 32,68%)
Маркеры не выявлены	24	13,64	(8,94%; 19,61%)
ВСЕГО	176	100%	

Анализ результатов исследований, представленных в таблице 6.4, показал

выявляемость маркеров герпесвирусной инфекции (ВЭБ и ЦМВ) у большей части больных ЭСО – в 55,7% случаев. Сочетание маркеров герпесвирусной инфекции с маркерами микоплазменной и/ли хламидофилезной инфекций определено в 25,6% случаев у больных с лимфопролиферативным синдромом, осложненным экссудативным средним отитом. Частота обнаружения сочетания маркеров инфекций *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae* без присутствия маркеров герпесных инфекций была значительно ниже, и составила 5,1% случаев. У части пациентов (13,64%) маркеры изучаемых инфекций не были обнаружены в крови обследуемых.

6.2. Изучение взаимосвязи латентных инфекций и клинической картины ЭСО

Маркеры латентных инфекций и лимфопролиферативный синдром

В патогенезе ЭСО имеют важное значение нарушения дренажной и вентиляционной функций слуховой трубы, которые могут быть обусловлены помимо других причин и гипертрофией лимфоидной ткани носоглотки [Савенко И.В. и соавт., 2010; Раар С.М., 1996; Kvestad E. et al., 2006]. В настоящей работе выполнен поиск возможных связей между наличием и степенью лимфопролиферативного синдрома у больных экссудативным средним отитом и маркерами латентных инфекций.

Больные ЭСО были распределены в три группы исследования по наличию и сочетаниям маркеров латентных инфекций. Группу 1 составили 98 (55,6%) пациентов, в крови у которых были выявлены маркеры только герпесвирусных инфекций. В группу 2 вошли 54 (30,7%) человека с наличием специфических антител к антигенам ВЭБ, ЦМВ, *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae*. 24 (13,6%) больных ЭСО, у которых не было выявлено маркеров латентных инфекций, включены в группу 3.

Выраженность лимфопролиферативного синдрома оценивали по наличию и величине гипертрофии небных (таблица 6.5) и глоточной миндалины (таблица 6.6)

и шейного и подчелюстного лимфаденита (таблица 6.7). Для статистической обработки данных была использована система оценки показателей в баллах. Так, оценка 0 баллов выставлялась при отсутствии шейного и подчелюстного лимфаденита, 1 балл – при умеренном увеличении, от 0,5 см до 1,5 см, шейных и подчелюстных лимфатических узлов, 2 балла – при выраженном увеличении, от 1,5 см и более, подчелюстных и/или шейных лимфатических узлов.

Таблица 6.5 – Наличие и степень гипертрофии небных миндалин в группах исследования

Степень гипертрофии	Группа 1			Группа 2			Группа 3		
	абс.	%	95%ДИ, %	абс.	%	95%ДИ, %	абс.	%	95%ДИ, %
1 степень	42	42,86	(32,90%; 53,25%)	34	62,96	(48,74%; 75,71%)	17	70,83	(48,91%; 87,38%)
2 степень	49	50,00	(39,73%; 60,27%)	20	37,04	(24,29%; 51,26%)	6	25,00	(9,77%; 46,71%)
3 степень	7	7,14	(2,92%; 14,16%)	0	0		1	4,17	(0,11%; 21,12%)
2 + 3 степени	56	57,14	(46,75%; 67,10%)	20	37,04	(24,29%; 51,26%)	7	29,17	(12,62%; 51,09%)

Наибольшая частота выявления гипертрофии небных миндалин 2 и 3 степени определена в группе больных, имеющих маркеры герпесвирусных инфекций, – 57,14%, что статистически значимо выше, чем в группе 2 с маркерами четырех латентных инфекций – 37,04% ($p<0,05$) и группе 3 без маркеров латентных инфекций – 29,17% ($p<0,05$). Между группами 2 и 3 статистически значимых различий не выявлено.

Таблица 6.6 – Наличие и степень гипертрофии глоточной миндалины в группах исследования

Степень гипертрофии	Группа 1			Группа 2			Группа 3		
	абс.	%	95%ДИ, %	абс.	%	95%ДИ, %	абс.	%	95%ДИ, %
1 степень	7	7,14	(2,92%; 14,16%)	2	3,70	(0,45%; 12,75%)	0	0	
2 степень	41	41,84	(31,95%; 52,23%)	23	42,59	(29,23%; 56,79%)	8	33,33	(15,63%; 55,32%)
3 степень	50	51,02	(40,72%; 61,26%)	29	53,70	(39,61%; 67,38%)	16	66,67	(44,68%; 84,37%)

Анализ данных, представленных в таблице 6.6, не выявил статистически значимых различий частоты степеней гипертрофии глоточной миндалины в группах исследования с сочетаниями маркеров латентных инфекций, а также в группе с отсутствием таковых (Хи-квадрат = 3,49; $p > 0,05$).

Сравнение в группах исследования частоты степеней увеличения шейных и подчелюстных лимфатических узлов представлено в таблице 6.7.

Наибольшая частота значительного увеличения лимфатических узлов (2 балла – более 1,5 см, или пакеты) выявлена в группе 1 с маркерами исключительно герпесвирусных инфекций, ее значение (29,59%) статистически значимо больше (Хи-квадрат = 28,8; $p < 0,05$), чем во 2 группе с маркерами четырех латентных инфекций и в 3 группе без маркеров латентных инфекций – 12,96% и 4,17% соответственно.

Наибольшая частота отсутствия увеличения лимфатических узлов выявлена в группе 3 без маркеров латентных инфекций и составила 37,50%, что статистически значимо чаще ($p < 0,05$) по сравнению с частотой в группе 2 и группе 1: 14,81% и 3,06% соответственно.

Таким образом, лимфопролиферативный синдром был более выражен у больных группы 1, у которых обнаружены в крови маркеры только ВЭБ- и ЦМВ-

Таблица 6.7 – Наличие и степень увеличения шейных и подчелюстных лимфатических узлов

Степень увеличения	Группа 1			Группа 2			Группа 3			Всего		
	абс.	%	95%ДИ, %	абс.	%	95%ДИ, %	абс.	%	95%ДИ, %	абс.	%	95%ДИ, %
0 баллов – отсутствие увеличения	3	3,1	(0,63%; 8,68%)	8	14,8	(6,61%; 27,11%)	9	37,5	(18,79%; 59,40%)	20	11,4	(7,08%; 17,00%)
1 балл – умеренное увеличение (0,5 – 1,5 см)	66	67,4	(57,12%; 76,47%)	39	72,2	(58,35%; 83,53%)	11	45,8	(25,54%; 67,17%)	116	65,9	(58,40%; 72,87%)
2 балла – резкое увеличение (> 1,5 см) или пакеты	29	29,5	(20,78%; 39,65%)	7	13,0	(5,36%; 24,89%)	1	4,2	(0,10%÷ 21,11%)	37	21,0	(15,25%÷ 27,79%)

инфекций. В частности, у более половины пациентов этой группы были обнаружены аденоидит с гипертрофией небных миндалин и глоточной миндалины 2 – 3 степени, и более чем в трети случаев выявлено преимущественно двухстороннее увеличение подчелюстных и шейных лимфоузлов.

В группе с маркерами инфекций *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae* в 47% случаев в анамнезе имелись указания на рецидивирующие синуситы, преимущественно гаймориты.

Маркеры латентных инфекций и стадии ЭСО

Следующим этапом настоящей работы было сопоставление результатов иммунологических исследований по выявлению в крови больных ЭСО маркеров латентных инфекций с особенностями клинической картины заболевания. У больных были выявлены три стадии экссудативного среднего отита: начальная – катаральная, последующая – экссудативная и финальная – мукозная [Дмитриев Н.С. и соавт., 1996]. Распределение больных по стадиям ЭСО и по наличию маркеров скрытых инфекций представлено в таблице 6.8.

Таблица 6.8 – Частота выявления сочетаний маркеров скрытых инфекций в крови у больных с различными стадиями ЭСО

Маркеры	Стадии ЭСО, число больных									Всего
	Катаральная			Экссудативная			Мукозная			
	абс.	%	95%ДИ, %	абс.	%	95%ДИ, %	абс.	%	95%ДИ, %	
только ВЭБ + только ЦМВ + микст: ВЭБ+ЦМВ	28	28,57	(19,90%; 38,58%)	54	55,10	(44,72%; 65,17%)	16	16,33	(9,63%; 25,16%)	98
микст: ВЭБ+ЦМВ+ <i>Mycoplasma pn.</i> и/или <i>Chlamydophila pn.</i>	17	31,48	(19,52%; 45,55%)	29	53,70	(39,61%; 67,38%)	8	14,81	(6,62%; 27,12%)	54

Продолжение таблицы 6.8

Отсутствие маркеров	7	29,17	(12,62%; 51,09%)	13	54,17	(32,82%; 74,45%)	4	16,67	(4,74%; 37,38%)	24
Всего	52	29,55	(22,92%; 36,88%)	96	54,55	(46,88%; 62,05%)	28	15,91	(10,84%; 22,17%)	176

У наибольшей части больных (54,55%) выявлена экссудативная стадия секреторного среднего, у остальных – катаральная (29,55%) и мукозная («клейкое ухо») (15,91%). Различия частоты стадий ЭСО у обследованных пациентов были статистически значимыми (Хи-квадрат = 83,16; $p < 0,05$).

При сравнении частот выявления маркеров латентных инфекций и их вариантов сочетаний в группах больных с различными стадиями ЭСО статистически значимых различий не выявлено.

***Результаты клинических и иммунологических исследований в оценке
аллергического компонента в патогенезе ЭСО***

Роль аллергического фактора в патогенезе ЭСО продолжает дискутироваться. Вместе с тем, анатомическая близость полости среднего уха к слизистой носоглотки, проявления аллергии в которой не вызывают сомнений, не позволяют исключить значение этого фактора в развитии ЭСО [Бурмистрова Т.В., 2004; Tos M. et al., 1990].

В трех группах исследования выполнено аллергологическое обследование для изучения связи латентных инфекций и частоты выявления аллергических состояний. Помимо сбора аллергологического анамнеза выполнены лабораторные исследования: клинический анализ крови с определением содержания эозинофилов в крови, микроскопия окрашенного мазка отделяемого из полости носа, определение в крови содержания общего иммуноглобулина Е.

Анализ анамнестических данных, представленных в таблице 6.13, показал, что в группе 2 (маркеры ВЭБ, ЦМВ, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*) зарегистрированы статистически значимо более частые проявления пищевой аллергии – 53,70% по сравнению с группами 1 и 3 – 29,59% и 25,00% соответственно ($p < 0,05$), а также более частые сочетания пищевой и/или

лекарственной и/или бытовой аллергий – 16,67% по сравнению с группами 1 и 3 – 5,10% и 4,17% соответственно ($p < 0,05$).

Таблица 6.13 – Аллергологический анамнез в группах исследования

Виды аллергий	Группа 1			Группа 2			Группа 3		
	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
Пищевая	29	29,59	(20,79%; 39,66%)	29	53,70	(39,61%; 67,38%)	6	25,00	(9,77%; 46,71%)
Бытовая	2	2,04	(0,25%; 7,18%)	4	7,41	(2,06%; 17,89%)	3	12,50	(2,66%; 32,36%)
Лекарственная	5	5,10	(1,68%; 11,51%)	2	3,70	(0,45%; 12,75%)	0	0	
Сочетание 2 и более аллергий	5	5,10	(1,68%; 11,51%)	9	16,67	(7,92%; 29,29%)	1	4,17	(0,11%; 21,12%)

Частота выявления видов аллергической патологии в группах исследований представлена в таблице 6.14.

Таблица 6.14 – Виды аллергической патологии в группах исследования

Клинические проявления аллергии	Группа 1			Группа 2			Группа 3		
	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
Атопический дерматит	24	24,5	(16,35%; 34,20%)	25	46,3	(32,61%; 60,38%)	4	16,7	(4,73%; 37,37%)
Аллергический ринит	11	11,2	(5,73%; 19,19%)	11	20,4	(10,62%; 33,52%)	4	16,7	(4,73%; 37,37%)
Бронхиальная астма аллергического генеза	0	0		2	3,7	(0,44%; 12,74%)	1	4,2	(0,10%; 21,11%)

В группе 2 статистически значимо более часто зарегистрированы случаи атопического дерматита (46,30%) по сравнению с группами 1 и 3 (24,49% и 16,67% соответственно) ($p < 0,05$), а также аллергического ринита, но эти различия не были статистически значимыми ($p > 0,05$), как и в частоте выявления бронхиальной астмы между группами исследования ($p > 0,05$).

Результаты анализа полученных данных свидетельствуют о связи хронических персистирующих латентных инфекций с аллергическими проявлениями у детей с хронической патологией лимфоэпителиального глоточного кольца, осложненной экссудативным средним отитом.

Результаты микроскопии окрашенного мазка отделяемого из полости носа 90 больных ЭСО представлены в таблице 6.15.

Таблица 6.15 – Результаты микроскопии мазка отделяемого из полости носа в группах исследования

Результаты	Группа 1			Группа 2			Группа 3		
	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
Эозинофилия	4	4,08	(1,12%; 10,12%)	10	18,52	(9,25%; 31,43%)	2	8,33	(1,03%; 27,00%)
Лимфоцитоз	34	34,69	(25,36%; 44,98%)	32	59,26	(45,03%; 72,43%)	6	25,00	(9,77%; 46,71%)
Нейтрофилез	5	5,10	(1,68%; 11,51%)	8	14,81	(6,62%; 27,12%)	4	16,67	(4,74%; 37,38%)
Вариант нормы	1	1,02	(0,03%; 5,55%)	2	3,70	(0,45%; 12,75%)	6	25,00	(9,77%; 46,71%)

Изучение клеточного состава назального секрета в группах исследования показало, что помимо нормального типа клеточного состава, выявленного только у 10% всех обследованных, присутствовали и патологические варианты с доминирующим содержанием определенной субпопуляции лейкоцитов:

эозинофилия, лимфоцитоз и нейтрофилия. При этом у большей части больных ЭСО выявлено сочетание типов клеточного состава мазка отделяемого из полости носа.

Эозинофилия в мазке зарегистрирована у больных группы 2 статистически значимо чаще – в 18,52% случаев по сравнению с группами 1 и 3 – 4,08% и 8,33% соответственно ($p < 0,05$). Лимфоцитоз в мазке выявлялся статистически значимо чаще также в группе 2 – в 59,26% случаев по сравнению с группами 1 и 3 – 34,69% и 25,00% соответственно ($p < 0,05$). Нормальный тип клеточного состава мазка доминировал в группе 3 (без маркеров латентных инфекций) ($p < 0,05$). Полученные лабораторные данные подтверждают анализ анамнестических данных о большей аллергизации организма у больных ЭСО с наличием в крови маркеров *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae*.

Результаты клинического анализа крови, взятой у больных, представлены в таблице 6.16.

Таблица 6.16 – Результаты клинического анализа крови у обследованных больных

Результаты	Группа 1			Группа 2			Группа 3		
	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
Лейкоцитоз ($> 9 \times 10^9/\text{л}$)	12	12,24	(6,49%; 20,41%)	8	14,81	(6,62%; 27,12%)	1	4,17	(0,11%; 21,12%)
Эозинофилия ($> 5\%$)	4	4,08	(1,12%; 10,12%)	12	22,22	(12,04%; 35,60%)	3	12,50	(2,66%; 32,36%)
Лимфоцитоз ($> 37\%$)	79	80,61	(71,39%; 87,90%)	41	75,93	(62,36%; 86,51%)	13	54,17	(32,82%; 74,45%)
Моноцитоз ($> 11\%$)	3	3,06	(0,64%; 8,69%)	1	1,85	(0,05%; 9,89%)	0	0	

Клинический анализ крови показал, что у больных с маркерами латентных инфекций из групп 1 и 2 по сравнению с группой 3 (без маркеров латентных

инфекций) более часто выявлялся лейкоцитоз ($> 9 \times 10^9/\text{л}$). Эозинофилия (более 5% эозинофилов в лейкограмме) была выявлена статистически значимо чаще у больных группы 2 – в 22,22% случаев по сравнению с группами 1 и 3 – 4,08% и 12,50% соответственно ($p < 0,05$).

Частота выявления лимфоцитоза не имела статистически значимых различий между группами 1 и 2, но была статистически значимо больше – в 80,61% и 75,93% случаев соответственно, чем в группе 3 – 54,17% ($p < 0,05$).

Результаты клинического анализа крови также подтверждают анамнестические данные о большей аллергизации организма у больных ЭСО с наличием в крови маркеров *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae*.

Результаты определения общего иммуноглобулина Е в крови, выполненного больным в группах исследования, представлены в таблице 6.17.

Таблица 6.17 – Результаты определения общего иммуноглобулина Е в крови у обследованных больных

Уровни IgE	Группа 1			Группа 2			Группа 3		
	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
Умеренное повышение до 200 КЕ/л	21	21,43	(13,78%; 30,87%)	21	38,89	(25,92%; 53,12%)	2	8,33	(1,03%; 27,00%)
Повышение более 200 КЕ/л	12	12,24	(6,49%; 20,41%)	16	29,63	(17,98%; 43,61%)	1	4,17	(0,11%; 21,12%)
Норма	65	66,33	(56,07%; 75,56%)	20	37,04	(24,29%; 51,26%)	20	83,33	(62,62%; 95,26%)

Анализ результатов исследований показал, что в группе 3 (без маркеров латентных инфекций) выявлена наибольшая частота нормального уровня в крови общего IgE – в 83,33% случаев по сравнению с группами 1 и 2 – в 66,33% случаев ($p > 0,05$) и в 37,04% случаев ($p < 0,05$) соответственно. В группе 2 (маркеры ВЭБ,

ЦМВ, *Myc. pneumoniae*, *Chl. pneumoniae*) статистически значимо чаще ($p < 0,05$) выявляется в крови повышение содержания иммуноглобулина Е в сравнении с группами 1 и 3. При этом уровни IgE в группе 1 статистически значимо выше, чем в группе 3 ($p < 0,05$).

Таким образом, результаты микроскопии мазка отделяемого из полости носа, клинического анализа крови и определения в крови общего иммуноглобулина Е свидетельствуют о большей аллергизации организма у больных ЭСО с наличием в крови маркеров *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae* (группа 2).

Присутствие в крови маркеров скрытых инфекций дает основание рассматривать ВЭБ- и ЦМВ-инфекции как важные этиологические факторы экссудативного среднего отита у детей, вызывающие у них формирование лимфопролиферативного синдрома.

Частое присутствие в крови у детей с ЭСО маркеров инфекций, вызываемых *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae*, способность этих патогенов к длительной персистенции, а также их участие в развитии аллергической патологии свидетельствует о патогенетической роли указанных инфекций в формировании экссудативных средних отитов.

6.3. Цитологические и иммунологические исследования

Способ взятия биологического материала из полости среднего уха

Смывы со слизистой оболочки барабанной полости выполняли с помощью специально разработанного устройства (раздел 2.2., рисунок 2.2), позволяющего изменять объем промывающей жидкости (стерильного физиологического раствора) в диапазоне от 0 до 2,0 мл. Полученные образцы стандартизовали по содержанию общего белка [Bradford M.M., 1976].

Клеточный состав отделяемого полости среднего уха

Образцы смывов из полости среднего уха получены у 131 больного ЭСО. Цитологическое исследование образцов экссудата проводилось в клинической

лаборатории ФГБУ СПб НИИ ЛОР. В результате исследования образцов были выявлены нейтрофилы, лимфоциты и эритроциты (таблица 6.18). Оценку результатов исследований проводили с использованием классификации М.Ф. Камаева (1970) в модификации О.С. Сергель и З.Г. Гончаровой (1990), выявляя случаи с повышенным содержанием клеточных элементов в образцах.

Таблица 6.18 – Частота повышения содержания клеток в экссудате барабанной полости

Клеточные элементы	абс.	%	(95% ДИ), %
Нейтрофилы	98	74,81	(66,48%;81,98%)
Лимфоциты	56	42,75	(34,15%;51,68%)
Эозинофилы	7	5,34	(2,18%;10,70%)
Эритроциты	37	28,24	(20,73%;36,77%)

Анализ полученных результатов показывает, что наиболее часто в экссудате среднего уха у больных ЭСО выявляется повышенное содержание нейтрофилов и лимфоцитов. Этот цитологический пейзаж соответствует воспалительному и воспалительно-регенераторному типам процессов. Повышенное содержание эозинофилов было выявлено только в 5,34% случаев. Низкая выявляемость эозинофилов в экссудате среднего уха не исключает участие аллергического компонента в патогенезе ЭСО, но является свидетельством меньшего проявления локального аллергического воспаления на фоне выраженной общей алергизации значительной части больных. Полученные результаты совпадают с мнением А.В. Саликова (2010), который считает возможным изменение клеточного состава экссудата в зависимости от длительности и фазы воспалительного процесса в полости среднего уха.

Спектр цитокинов в экссудате среднего уха

Оценку профиля цитокинов необходимо рассматривать как одну из важных характеристик иммунной системы, с помощью которой представляется возможным понять патогенетические механизмы заболеваний.

Были изучены уровни провоспалительных IL-1 β , IL-6 и противовоспалительного IL-1ra цитокинов в смывах из полости среднего уха у 80 больных ЭСО (таблица 6.19). Значимые уровни цитокинов в смывной жидкости (более 0,2 пг/мл) были выявлены в группах исследования с частотой от 8% до 53%.

Таблица 6.19 – Частота выявления про- и противовоспалительных цитокинов в смывах из полости среднего уха у обследованных больных

Цитокины	Группа 1			Группа 2			Группа 3		
	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
IL-1 бета	7	20,00	(8,44%; 36,94%)	8	25,00	(11,46%; 43,40%)	1	7,69	(0,19%; 36,03%)
IL-1 ra	17	48,57	(31,38%; 66,01%)	17	53,13	(34,74%; 70,91%)	4	30,77	(9,09%; 61,43%)
IL-6	11	31,43	(16,85%; 49,29%)	15	46,88	(29,09%; 65,26%)	3	23,08	(5,04%; 53,81%)

Анализ полученных данных показал, что статистически значимых различий в содержании цитокинов, как провоспалительных, так и и противовоспалительного, в экссудате барабанной полости между группами больных ЭСО не выявлено ($p>0,05$). Вместе с тем, отмечена тенденция увеличения продукции провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6 в группах 1 и 2 с наличием в крови маркеров латентных инфекций, что может рассматриваться как свидетельство более неблагоприятного течения патологического процесса в полости среднего уха.

Этот феномен соответствует ранее полученным результатам, свидетельствующим о более выраженных клинических проявлениях ЭСО в этих группах, и подкрепляется результатами лабораторных исследований. Кроме того, учитывая, что в группах исследования были больные с разными стадиями ЭСО, собственные результаты анализа системы цитокинов соответствуют данным

литературы о том, что группа провоспалительных цитокинов участвует на всех этапах развития и реализации иммунологического ответа на инфекцию – в обеспечении локализации и эрадикации патогенов, а затем и репаративных процессов, в том числе и в среднем ухе [Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж., 2008; Симбирцев А.С., 1998, 2002; Smirnova M.G. et al., 2002].

Профили цитокинов в смывах из среднего уха и выраженность аллергических проявлений у больных ЭСО

Цитокин группы интерлейкинов интерлейкин 4 продуцируется активированными CD4⁺ Т-лимфоцитами (Th2), тучными клетками и эозинофилами и является участником аллергических процессов. IL-4 регулирует дифференцировку В-лимфоцитов, а также продукцию ими антител IgE и IgG1, влияет на накопление эозинофилов и экспрессию рецептора для IgE (CD23) на В-лимфоцитах и тучных клетках. Повышенное содержание IL-4 в может наблюдаться в крови при аллергических заболеваниях. Учитывая влияние IL-4 на увеличение продукции иммуноглобулинов IgE, повышенный уровень этого цитокина может потенцировать аллергические состояния. Кроме того, существуют обоснованные предположения, что В-лимфоциты у больных с проявлениями аллергии более чувствительны к действию IL-4 [Кетлинский С.А. и соавт., 1992].

IFN- γ продуцируют некоторые активированные Т-лимфоциты и НК-клетки. Этот цитокин снижает экспрессию субпопуляции В-клеток, моноцитов и эозинофилов, индуцированную IL-4; а также уменьшает продукцию IgE [Кетлинский С.А. и соавт., 1992].

Баланс данных цитокинов был изучен в смывах из полости среднего уха у 80 больных ЭСО, разделенных на 3 группы по результатам клинικο-лабораторного обследования на предмет определения аллергологического статуса. Лабораторные исследования включали клинический анализ крови с подсчетом содержания эозинофилов, микроскопию мазка отделяемого из полости носа, а также определение уровня общего IgE в крови.

Группу 1 составили больные ЭСО в количестве 24 человек (30%), имеющие

аллергические заболевания верхних дыхательных путей и повышенный уровень общего IgE в крови. В группу 2 вошли 26 (32,5%) пациентов с минимальными клиническими проявлениями аллергических заболеваний (дерматит) и нормальным уровнем общего IgE в крови. В группу 3 были включены 30 больных (37,5%) без аллергических проявлений.

Результаты исследований представлены в таблице 6.20.

Таблица 6.20 – Частота выявления цитокинов IL-4 и IFN- γ в смывах из полости среднего уха в группах исследования

Цитокины	Группа 1			Группа 2			Группа 3		
	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
IL-4	10	41,67	(22,11%; 63,36%)	10	38,46	(20,23%; 59,43%)	5	16,67	(5,64%; 34,72%)
IFN- γ	2	8,33	(1,03%; 27,00%)	1	3,85	(0,10%; 19,64%)	3	10,00	(2,11%; 26,53%)

Выявление цитокинов в смывной жидкости означало их концентрацию более 0,2 пг/мл. В группе 1 (аллергические заболевания верхних дыхательных путей и повышенный уровень общего IgE в крови) определена самая высокая частота выявления IL-4 в экссудате барабанной полости – в 41,67% случаев. В группе 2 этот показатель несколько ниже, но статистически значимого различия с группой 1 не имеет ($p>0,05$). В группе 3 (без аллергических проявлений) частота выявления IL-4 оказалась самой низкой – 16,67%, что статистически значимо меньше по сравнению с группами 1 и 2.

Частота выявления IFN- γ в экссудате барабанной полости у больных ЭСО в группах исследования также оказалась различной. Наименьшая частота зарегистрирована в группе 2 – в 3,85% случаев, в группах 1 и 3 этот показатель больше – 8,33% и 10,00% однако выявленные различия не были статистически значимыми ($p>0,05$).

Таким образом, выявлена статистически значимая разница локальной

продукции IL-4 в группах исследования в зависимости от наличия аллергических проявлений. Основные эффекты IL-4 заключаются в увеличении числа эозинофилов и тучных клеток и усилении гуморального иммунного ответа, опосредованного Th-2-клетками. Поэтому повышение продукции IL-4, обнаруженное в барабанной полости у больных ЭСО с признаками аллергизации, согласуется с данными С.А. Кетлинского и соавт. (1992) о том, что нарушение баланса IL-4 и IFN- γ является свидетельством и факторами развития аллергических состояний.

IL-4 обнаружен также и в экссудате барабанной полости у больных ЭСО, не имеющих клинических и лабораторных проявлений аллергический. Вместе с тем, именно в этой группе обнаружена самая высокая выявляемость IFN- γ , обеспечивающего необходимый в норме баланс. Кроме того, продукция IL-4 может быть выражением наследственной предрасположенности к аллергии, которая в дальнейшем может обусловить повышение продукции IgE и формирование генерализованной гиперчувствительности [Смирнова Г.И., 2006; Leung D.Y., 2013].

6.4. Использование результатов исследований на латентные инфекции для определения индивидуальных схем лечения

Выполнен анализ отдаленных результатов оперативного лечения 176 больных с патологией лимфоэпителиального глоточного кольца, осложненной экссудативным средним отитом. Через 1, 3 и 6 месяцев после проведения оперативных вмешательств в области ЛГК и барабанной полости большинству пациентов были выполнены контрольные осмотры с импедансометрическим исследованием.

Прооперированные пациенты были разделены на 3 группы соответственно результатам определения в крови маркеров латентных инфекций и наличием или отсутствием динамического наблюдения (таблица 6.21).

В группу 1 вошли пациенты с отсутствием маркеров латентных инфекций.

Группу 2 составили пациенты с наличием маркеров латентных инфекций, прибывавшие в послеоперационный период для динамического наблюдения и получившие специфическую антимикробную терапию. В группу 3 были включены пациенты с наличием маркеров латентных инфекций, но не находившиеся под динамическим наблюдением.

Таблица 6.21 – Распределение больных по группам для оценки отдаленных результатов оперативного лечения

Группы исследования	абс.	%	(95%ДИ), %
группа 1 – отсутствие маркеров латентных инфекций	24	13,6	(8,94%; 19,61%)
группа 2 – наличие маркеров латентных инфекций + динамическое наблюдение	132	75,0	(67,93%; 81,21%)
группа 3 – наличие маркеров латентных инфекций и отсутствие динамического наблюдения	20	11,4	(7,08%; 17,00%)
Всего	176	100	

Через 1 месяц после проведения оперативного вмешательства по результатам пороговой аудиометрии у пациентов группы 1 с отсутствием маркеров латентных инфекций выявлено улучшение слуховой функции в 93% случаев, а у группы 2 с наличием маркеров латентных инфекций – в 57% случаев. Нормализация слуховой и тубарной функции в группе 1 наблюдалась статистически значимо чаще (75,00%), чем в группе 2 (28,03%) ($p < 0,05$).

Учитывая меньшую частоту восстановления слуховой и тубарной функции у пациентов группы 2, им была назначена специфическая антимикробная терапия в соответствии с видом латентной инфекции. Так, при герпесвирусной инфекции больным была назначена комбинация препаратов интерферона, индукторов интерферона и иммуномодуляторов с поэтапным приемом.

В случаях наличия лабораторных признаков микоплазменной и

хламидофилезной инфекций была назначена антибактериальная терапия (кларитромицин) и препараты, поддерживающие баланс кишечной микрофлоры

Через 3 месяца после оперативного вмешательства у пациентов из группы 1 по результатам пороговой аудиометрии выявлена нормализация слуховой функции в 98% случаев, а у больных из группы 2 с наличием маркеров латентных инфекций – в 86% случаев. На фоне специфической терапии стойкая нормализация тубарной функции у представителей группы 2 была зарегистрирована в 53,03% случаев.

Результаты определения в крови специфических антител к ВЭБ, представлены в таблице 6.22.

Таблица 6.22 – Маркеры ВЭБ-инфекции у пациентов до и после проведения специфической терапии

Антитела к ВЭБ	До лечения			После лечения		
	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
IgM VCA- ВЭБ	16	12,12	(7,09%;18,94%)	1	0,76	(0,02%;4,15%)
IgG EA- ВЭБ	13	9,85	(5,35%;16,25%)	2	1,52	(0,18%;5,37%)
IgG NA- ВЭБ	93	70,45	(61,89%;78,07%)	102	77,27	(69,17%;84,11%)

В результате специфической терапии наблюдалось статистически значимое уменьшение числа пациентов с содержанием в крови специфических антител IgM к VCA ВЭБ от 12,12% до 0% (критерий Мак-Немара, $p=0,0002$), а также антител IgG к EA ВЭБ, от 9,85% до 1,52% (критерий Мак-Немара, $p=0,003$). Таким образом, у большинства пациентов из группы 2 произошла элиминация в крови маркеров активности ВЭБ-инфекции.

Результаты молекулярно-генетического анализа ДНК ВЭБ в крови и слюне пациентов из группы 2 до и после специфической терапии представлены в таблице 6.23.

Таблица 6.23 – Частота выявления ДНК ВЭБ в крови и слюне у пациентов до и после проведения специфической терапии

Материалы исследования		До лечения			После лечения		
Кровь	Слюна	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
+	+	7	5,30	(2,16%;10,62%)	0	0,00	
-	+	16	12,12	(7,09%;18,94%)	3	2,27	(0,47%;6,50%)
+	-	6	4,55	(1,69%;9,63%)	0	0,00	

В результате специфической терапии количество положительных результатов выявления ДНК ВЭБ в слюне снизилось до 2,27%, а в крови таковые не наблюдались ($p < 0,05$).

Результаты определения в крови специфических антител к ЦМВ, представлены в таблице 6.24.

Таблица 6.24 – Маркеры ЦМВ-инфекции у пациентов до и после проведения специфической терапии

Специфические антитела к ЦМВ	До лечения			После лечения		
	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
анти-ЦМВ-IgM	16	12,12	(7,09%;18,94%)	2	1,52	(0,18%;5,37%)
анти-ЦМВ-IgG	77	58,33	(49,44%;66,85%)	81	61,36	(52,50%;69,71%)

В результате специфической терапии наблюдается статистически значимое уменьшение числа пациентов, у которых в крови были выявлены анти-ЦМВ-IgM от 12,12% до 1,52% (критерий Мак-Немара $p = 0,0005$).

Результаты молекулярно-генетического анализа ДНК ЦМВ в крови и слюне пациентов из группы 2 до и после специфической терапии представлены в таблице 6.25.

Таблица 6.25 – Частота выявления ДНК ЦМВ в крови и слюне у пациентов до и после проведения специфической терапии

Материалы исследования		До лечения			После лечения		
Кровь	Слюна	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
+	+	6	4,55	(1,69%;9,63%)	1	0,00	
-	+	11	8,33	(4,23%;14,42%)	2	1,52	(0,18%;5,37%)
+	-	1	0,76	(0,02%;4,15%)	0	0,00	

В результате специфической терапии количество положительных результатов выявления ДНК ЦМВ в слюне снизилось до 1,52%, а в крови – до 0%, что имеет статистически значимое различие ($p<0,05$).

Результаты определения в крови специфических антител к *Mycoplasma pneumoniae* представлены в таблице 6.26.

Таблица 6.26 – Маркеры микоплазменной инфекции у пациентов до и после проведения специфической терапии

Специфические антитела	До лечения			После лечения		
	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
IgA	5	3,79	(1,24%;8,62%)	0	0,00	
IgM	8	6,06	(2,65%;11,59%)	1	0,76	(0,02%;4,15%)
IgG	14	10,61	(5,92%;17,15%)	16	12,12	(7,09%;18,94%)

В результате специфической терапии наблюдается статистически значимое уменьшение числа пациентов, у которых в крови были выявлены IgA к *Mycoplasma pneumoniae*, от 3,79% до 0% ($p<0,05$), а также статистически значимое уменьшение выявления антител IgM от 6,06% до 0,76% (критерий Мак-Немара $p=0,0013$).

Результаты молекулярно-генетического анализа ДНК *Mycoplasma*

pneumoniae в крови и слюне пациентов из группы 2 до и после специфической терапии представлены в таблице 6.27.

Таблица 6.27 – Частота выявления ДНК *Mycoplasma pneumoniae* в крови и слюне у пациентов до и после проведения специфической терапии

Материалы		До			После		
Кровь	Слюна	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
-	+	9	6,82	(3,16%;12,55%)	2	1,52	(0,18%;5,37%)

В результате специфической терапии количество положительных результатов выявления ДНК *Mycoplasma pneumoniae* в слюне снизилось с 6,82% до 1,52%, что имеет статистически значимое различие ($p<0,05$).

Результаты определения в крови специфических антител к *Chlamydomphila pneumoniae* представлены в таблице 6.28.

Таблица 6.28 – Маркеры инфекции *Chlamydomphila pneumoniae* у пациентов до и после проведения специфической терапии

Специфические антитела	До			После		
	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
IgA	5	3,79	(1,24%;8,62%)	0	0,00	
IgM	10	7,58	(3,69%;13,49%)	2	1,52	(0,18%;5,37%)
IgG	38	28,79	(21,24%;37,31%)	41	31,06	(23,30%;39,70%)

В результате специфической терапии наблюдается статистически значимое уменьшение числа пациентов, у которых в крови были выявлены IgA к *Chlamydomphila pneumoniae*, от 3,79% до 0% ($p<0,05$), а также статистически значимое снижение частоты выявления антител IgM от 7,58% до 1,52% (критерий

Мак-Немара $p=0,0023$).

Данные молекулярно-генетического анализа ДНК *Chlamydophila pneumoniae* в крови и слюне пациентов из группы 2 до и после специфической терапии представлены в таблице 6.29.

Таблица 6.29 – Частота выявления ДНК *Chlamydophila pneumoniae* в крови и слюне у пациентов до и после проведения специфической терапии

Материалы		До лечения			После лечения		
Кровь	Слюна	абс.	%	(95%ДИ), %	абс.	%	(95%ДИ), %
-	+	9	6,06	(2,65%;11,59%)	0	0	

В результате специфической терапии количество положительных результатов выявления ДНК *Chlamydophila pneumoniae* в слюне снизилось с 6,06% до 0%, что имеет статистически значимое различие ($p<0,05$). После лечения результаты молекулярно-генетического анализа (ДНК патогенов) становятся отрицательными быстрее, чем определение в крови специфических антител, что связано с их длительной циркуляцией после эрадикации патогенов.

Уменьшение частоты выявления у пациентов из группы 2 ДНК патогенов и специфических антител к ним является признаком положительной динамики клинической картины, свидетельствующим об эрадикации патогенов из организма больных, в том числе из лимфоидных органов носоглотки, что обуславливает купирование процессов воспаления и отека в них и, как следствие, нормализацию функции слуховой трубы.

Результаты пороговой аудиометрии, выполненной в группах исследования через 6 месяцев после проведения оперативного вмешательства, показали улучшение слуховой функции у пациентов из группы 1 в 98,5% случаев, а в группе 2 – в 94% случаев.

Стойкая нормализация слуховой и тубарной функции выявлена у 95,83% пациентов из группы 1, в группе 2 этот показатель составил 90,91%, а у пациентов

из группы 3, которые не проходили контрольные осмотры и не получали антимикробной терапии, положительный результат получен только в 70% (45,72%; 88,11%) случаев.

Таким образом, по истечении 1 месяца после выполнения оперативного вмешательства у пациентов, не имеющих лабораторных признаков латентных инфекций, нормализация слуховой и тубарной функции наступает в 75% случаев, а у больных с наличием в крови маркеров скрытых инфекций этот показатель составляет только 28%. В результате проведения антимикробной терапии и динамического наблюдения к 6 месяцу положительный результат получен в 90,91% случаев. Это указывает на необходимость систематического наблюдения и специфической терапии в послеоперационном периоде в данной группе больных.

Оперативное лечение позволяет санировать очаг воспаления – полость среднего уха, создавать условия для купирования воспаления, а также восстанавливать физиологические размеры миндалин ЛГК для нормализации функционирования слуховой трубы. У больных в условиях персистенции возбудителей латентных инфекций этого явно недостаточно. Практика показывает, что без поддержки механизмов иммунитета и проведения специфической этиотропной терапии у таких больных не удастся достичь должного уровня реконвалесценции.

Результаты настоящей работы доказывают, что лечение детей с ЭСО и лабораторными признаками латентных инфекций помимо оперативного вмешательства должно включать антимикробную терапию и послеоперационный мониторинг с контролем маркеров патогенов.

ГЛАВА 7. ВЛИЯНИЕ ОПЕРАЦИОННОЙ ТРАВМЫ И ЛАТЕНТНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА У ДЕТЕЙ С ПАТОЛОГИЕЙ ЛИМФОЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ГЛОТОЧНОГО КОЛЬЦА

Проведено клинико-лабораторное обследование:

- 166 больных с верифицированными диагнозами «хронический аденоидит» и/или «хронический тонзиллит», обоего пола, в возрасте от 2 до 14 лет;
- 10 пациентов с патологией слуха, но без патологии ЛГК, обоего пола, в возрасте от 3 до 12 лет, составившие группу контроля

Диагнозы «хронический аденоидит» и «хронический тонзиллит» были условно обобщены термином «хроническая патология лимфоэпителиального глоточного кольца» (ХПЛГК).

7.1. Показатели свертывающей системы крови до оперативного лечения

До оперативного вмешательства на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца больным с ХПЛГК был проведен комплекс исследований показателей системы гемостаза. Результаты исследований отображены в таблице 7.1.

Таблица 7.1 – Уровни тромбоцитов в крови у больных ХПЛГК до оперативного лечения, n=166

Тест системы гемостаза	M \pm m	min÷max	Референсные значения
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	296,36 \pm 6,42	159÷617	180-380

У обследованных пациентов выраженной тромбоцитопении не выявлено. У некоторых пациентов обнаружены пониженный ($159 \times 10^9/\text{л}$) и повышенный ($617 \times 10^9/\text{л}$) уровни тромбоцитов в периферической крови. Выявленные отклонения не являются признаками критичных нарушений тромбоцитарного звена

свертывающей системы крови.

Помимо исследования содержания тромбоцитов в крови больным с ХПЛГК был выполнен анализ адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов (концентрация адреналина $2,5 \times 10^{-6}$ моль/л). К проведению оперативного лечения допускались больные без нарушений адгезивной и агрегационной функций тромбоцитов. Результаты исследований представлены в таблице 7.2.

Таблица 7.2 – Показатели адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов у больных ХПЛГК до оперативного лечения

Результаты исследований	абс.	%	(95% ДИ)
Двухфазная кривая (норма)	145	87,4%	(81,30%;91,19%)
Подавление агрегации в условиях нарушения реакции освобождения	21	12,7%	(7,99%;18,68%)
Всего обследовано больных ХПЛГК	166		

Анализ результатов исследования адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов показал, что у 145 (87,35%) больных определялся вариант нормальной кривой – двухфазная агрегация тромбоцитов (рисунок 7.1).

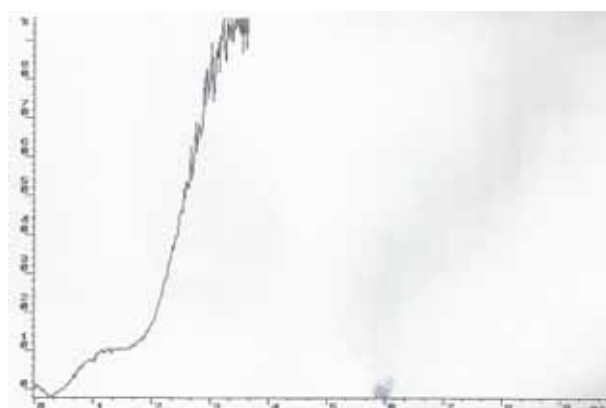


Рисунок 7.1 – Регистрация процесса агрегации тромбоцитов, индуцированной адреналином. Вариант нормальной кривой, описывающей двухфазную агрегацию тромбоцитов.

Подавление агрегации тромбоцитов в условиях нарушения реакции освобождения, присутствие только первичной агрегации было обнаружено у 13% пациентов (рисунок 7.2). Такой результат был противопоказанием для проведения хирургического лечения.

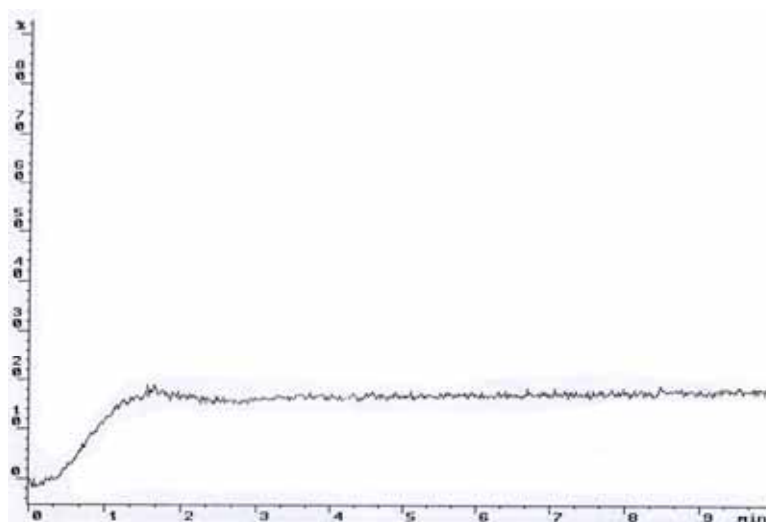


Рисунок 7.2 – Регистрация процесса адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов. Подавление агрегации в условиях нарушения реакции освобождения, присутствие только первичной агрегации

Оставшимся 145 больным было продолжено лабораторное гемостазиологическое обследование.

Следующим тестом системы гемостаза было АЧТВ. Результаты его определения представлены в таблице 7.3.

Доля случаев выявления нормальных значений АЧТВ (24 – 35, с) была наибольшей – 81,38% (118 чел.). У части больных – 18,62% (27 чел.) выявлено превышение референсных значений АЧТВ до 40 с, что не является противопоказанием для хирургического лечения.

Таблица 7.3 – Значения АЧТВ у больных ХПЛГК до оперативного лечения

Значения АЧТВ	абс.	%	(95% ДИ)	min÷max	M±m
24 – 35, с	118	81,38	(74,08%; 87,36%)	24÷35	32,49±0,3
> 35, с	27	18,62	(12,64%; 25,92%)	35,1÷40,4	37,64±0,4
Всего:	145	100			

Результаты определения % протромбина по Квику представлены в таблице 7.4.

Таблица 7.4 – Уровни % протромбина по Квику у больных ХПЛГК до оперативного лечения

Уровни	Число, абс.	%	(95% ДИ)	min÷max
Нормальные значения от 80% до 120 %	142	97,93	(94,07%; 99,57%)	80÷120
< 80%	3	2,07	(0,43%; 5,93%)	68,7÷79,32
Всего:	145	100		

У 98% обследованных пациентов (142 чел.) выявлены нормальные значения % протромбина по Квику. У 2% больных (3 чел.) обнаружено пониженное значение этого показателя от 79,32% до 68,7%. Однако такое значение не связано с риском операционного кровотечения и не является противопоказанием для проведения хирургического лечения.

Результаты определения фибриногена в крови представлены в таблице 7.5.

Таблица 7.5 – Уровни фибриногена в крови у больных ХПЛГК до оперативного лечения

Уровни фибриногена	абс.	%	(95% ДИ)	min÷max
Нормальные значения от 1,740 до 4,040, г/л	139	95,86	(91,21%; 98,47%)	1,740÷4,040
< 1,740, г/л	0	0		
> 4,040, г/л	6	4,14	(1,53%; 8,79%)	4,087÷4,235
Всего:	145	100		

У 96% (139 чел.) больных выявлены нормальные значения фибриногена в крови. У 4% пациентов (6 чел.) обнаружен повышенный уровень фибриногена – 4,235 г/л. Такой результат не является нарушением системы гемостаза, которое может стать причиной операционного кровотечения, и не является противопоказанием для хирургического лечения.

Таким образом, у больных ХПЛГК до оперативного лечения были выявлены некоторые отклонения от нормы в результатах скрининговых коагулологических тестов. Результаты выполненных исследований представлены в таблице 7.6.

Наибольшее значение имело выявление уровней тромбоцитов, выходящих за пределы референсных значений, оно выявлено в 31,8% случаев (46 чел.): ниже нормы в 2,8% случаев (4 чел.) и выше нормы – в 29,0% случаев (42 чел.). Только превышение нормы АЧТВ выявлено у 19% больных (27 чел.), фибриногена в плазме крови – у 4% (6 чел.). Только снижение уровня % протромбина по Квику обнаружено у 2% больных (3 чел.).

В целом, проведение скрининговых гемостазиологических тестов выявило отклонения от референсных значений у 82 больных ХПЛГК, что составило более половины (56,5%) всех обследованных больных.

Таблица 7.6 – Отклонения от нормы результатов коагулологических исследований у больных ХПЛГК до оперативного лечения

Показатели	Ед. измер.	ниже нормы		выше нормы	
		абс.	%	абс.	%
Тромбоциты	$\times 10^9/\text{л}$	4	2,8	42	29,0
АЧТВ	с	0	0	27	19,0
% протромбина по Квику	%	3	2,0	0	0
Фибриноген	г/л	0	0	6	4,0
Всего		82, 56,5%			

7.2. Воздействие операционной травмы на систему гемостаза

Динамика показателей функции тромбоцитов

В настоящей работе выполнено исследование воздействия операционной травмы на свертывающую систему крови (во время оперативного вмешательства на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца). Повторное определение функции тромбоцитов осуществляли сразу после окончания операции. Взятие образцов венозной крови проводили на операционном столе, пока пациент еще находился под наркозом. Результаты исследования адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов представлены в таблице 7.7.

До операции у всех больных исследование адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов показало нормальную двухфазную кривую. Во время операции у большинства пациентов, у которых не было операционных кровотечений, обнаружено подавление агрегации тромбоцитов в условиях нарушения реакции освобождения, регистрировалась только первичная агрегация, и у небольшой части больных выявлено снижение степени вторичной агрегации от 80 до 60%.

Таблица 7.7 – Результаты исследования адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов до и во время оперативного вмешательства на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца

Результаты	До		Во время			
			без кровоте- чений		с кровоте- чениями	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Двухфазная кривая (норма)	145	100	25	19	1	6
Подавление агрегации в условиях нарушения реакции освобождения	0	0	99	77	14	88
Уменьшение величины вторичной агрегации (от 80 % до 60 %)	0	0	5	4	1	6
Всего:	145	100%	129	100%	16	100%

В группе пациентов с операционными кровотечениями изменения агрегации тромбоцитов наблюдались статистически значимо чаще. При этом почти во всех случаях выявлено подавление агрегации тромбоцитов в условиях нарушения реакции освобождения, регистрировалась только первичная агрегация, и только у одного больного обнаружено снижение степени вторичной агрегации от 80 до 60%.

Через 1 месяц после выполнения хирургического лечения было проведено контрольное обследование больных, у которых имелись операционные кровотечения. Исследования адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов показали у всех 17 пациентов (100%) нормальную двухфазную кривую (таблица 7.8).

Динамика степени агрегации тромбоцитов у больных до, во время и через 1 месяц после операции на ЛГК представлена в таблице 7.8.

Анализ данных таблицы 7.8 показал, что больные, у которых не было операционных кровотечений, во время предоперационного обследования имели

нормальный уровень степени агрегации тромбоцитов. Операционная травма вызвала статистически значимое снижение этого показателя.

Таблица 7.8 – Показатели степени агрегации тромбоцитов в предоперационном периоде, во время операции и через 1 месяц после хирургического лечения

Степень агрегации тромбоцитов, %		Пациенты без кровотечений, n=128	Статистическая значимость различий, t	Пациенты с кровотечениями, n=17
До операции	M±m	116,42±5,67	p>0,05	87,84±6,46
	min÷max	26,4÷208,9		23÷126,8
	Me(LQ;UQ)	110,7(100;131,8)		100(83,1;100)
Статистическая значимость различий, t		p<0,05		p<0,001
Во время операций	M±m	37,14±2,34	p<0,05	15,46±1,31
	min÷max	5,2÷145,8		6,1÷25,7
	Me(LQ;UQ)	18,8(9,6;65)		12(12;17)
Статистическая значимость различий, t				p<0,001
Через 1 месяц после операции	M±m			92,84±5,5
	min÷max			38,1÷130,8
	Me(LQ;UQ)			91,3(78;110)

В группе больных, у которых имелись операционные кровотечения, при предоперационном обследовании была зарегистрирована нормальная степень агрегации тромбоцитов, значение которой не имело статистически значимых различий по сравнению с группой больных без кровотечений. При оперативном вмешательстве в группе с кровотечениями также отмечено статистически значимое уменьшение степени агрегации тромбоцитов, при этом оно привело к

статистически значимо более низким значениям, чем в группе больных без кровотечений во время операции.

Через 1 месяц после операции значение степени агрегации тромбоцитов в группе больных с кровотечениями выросло и статистически значимо не отличалось от уровня до оперативного вмешательства.

Полученные результаты графически отражены на рисунке 7.3.

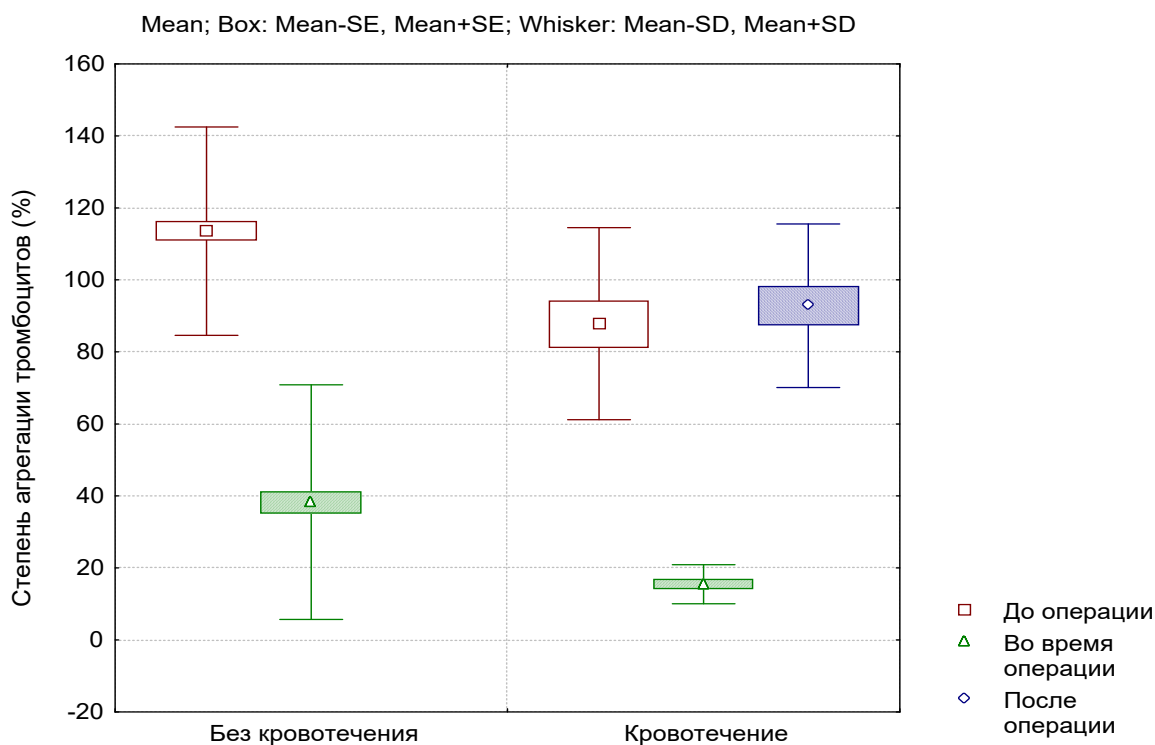


Рисунок 7.3 – Динамика показателя агрегации тромбоцитов среди больных с кровотечением и без него до, во время и через 1 мес. после операции.

Динамика АЧТВ и % протромбина по Квику

Проведено исследование динамики уровней АЧТВ и % протромбина по Квику в группе больных с ХПЛГК с операционными кровотечениями и в группе без таковых. Величины случаев выявления значений АЧТВ, отличающихся от нормы и выявленных при предоперационном обследовании и во время проведения хирургического вмешательства, приведены в таблице 7.9.

Таблица 7.9 – Воздействие операционной травмы на величину случаев выявления значений АЧТВ, отличающихся от нормы, в группах больных без операционных осложнений и с операционным кровотечением

Группы больных	Случаи до операции			Случаи во время операции		
	абс.	%	(95% ДИ)	абс.	%	(95% ДИ)
Без кровотечений (n=128)	23	17,97	(11,74%; 25,73%)	16	12,50	(7,32%; 19,50%)
С кровотечениями (n=17)	3	17,65	(3,80%; 43,43%)	3	17,65	(3,80%; 43,43%)

Анализ данных, представленных в таблице 7.9, показал, что до и во время операции доли случаев отклонений от нормы значений АЧТВ внутри групп и между группами исследования, были практически одинаковыми и составляли от 12,5% до 17,97%.

В таблице 7.10 представлены величины случаев отклонений от нормы результатов определения % протромбина по Квику, полученных при предоперационном обследовании и во время проведения оперативного вмешательства.

Таблица 7.10 – Воздействие операционной травмы на величину случаев отклонений от нормы значений % протромбина по Квику в группах больных без операционных осложнений и с операционным кровотечением

Группы больных	Случаи до операции			Случаи во время операции		
	абс.	%	(95% ДИ)	абс.	%	(95% ДИ)
Без кровотечений (n=128)	1	0,78	(0,02%; 4,28%)	44	34,38	(26,21%; 43,28%)
С кровотечениями (n=17)	0	0		13	76,47	(50,10%; 93,19%)

Анализ данных, представленных в таблице 7.10, показал, что между

группами больных без операционных кровотечений и больных с операционным кровотечением величины случаев отклонений от нормы значений % протромбина по Квику до оперативного лечения не отличались и составили 0 % и 1 % соответственно. Во время операции величина случаев отклонений от нормы уровней % протромбина по Квику у больных с кровотечениями статистически значимо превышает таковую у больных без кровотечений (76,47% против 34,38% соответственно) ($p < 0,001$).

Таким образом, во время хирургического лечения нарушения тромбоцитарного звена гемостаза, а также внешнего и внутреннего путей плазменного гемостаза наблюдаются чаще в группе больных с операционными кровотечениями.

7.3. Связь нарушений системы гемостаза и операционных кровотечений с ВЭБ-, ЦМВ- и стрептококковой инфекциями

Выявление маркеров ВЭБ-, ЦМВ- и БГСА-инфекций. Для выяснения влияния герпесвирусных (ВЭБ, ЦМВ), а также БГСА-инфекции на систему гемостаза всем 145 пациентам проведено исследование крови на наличие маркеров ВЭБ-, ЦМВ- и БГСА-инфекций. Маркерами герпесвирусных инфекций были специфические антитела к белкам ВЭБ и ЦМВ, маркером стрептококковой инфекции – антитела к стрептолизину О (АСЛ-О), антигену бета-гемолитического стрептококка группы А (БГСА). Результаты исследований представлены в таблице 7.11.

Полученные результаты показали, что у большей части больных с ХПЛГК были зарегистрированы маркеры персистирующей ВЭБ- и ЦМВ-инфекций, как острой, так и хронической, что говорит о преимущественном инфицировании больных герпесвирусами ВЭБ и ЦМВ. В меньшей части случаев выявлялся АСЛ-О – 17,9%. У такой же части обследованных маркеры рассматриваемых инфекций не выявлены – 17,9%.

Таблица 7.11 – Маркеры ВЭБ-, ЦМВ- и стрептококковой (БГСА) инфекций в крови у больных с ХПЛГК

Маркеры	абс.	%	(95% ДИ)
ВЭБ + ЦМВ	93	64,1	(55,76%;71,93%)
БГСА-инфекции	26	17,9	(12,06%;25,16%)
Не выявлено	26	17,9	(12,06%;25,16%)
Всего:	145	100	

Формирование групп исследования. В зависимости от выявленных маркеров инфекций все больные ХПЛГК были разделены на 3 группы исследования:

- 1) в группу 1 вошли 26 (16,7%) пациентов без маркеров герпесвирусных и стрептококковой инфекций;
- 2) группу 2 составили 93 (60%) больных с маркерами ВЭБ- и ЦМВ-инфекций;
- 3) группа 3 состояла из 26 (16,7%) пациентов с маркером стрептококковой инфекции (АСЛ-О).

Группу контроля составили 10 (6,6%) пациентов с патологией слуха, у которых не была выявлена ХПЛГК.

Группы исследования представлены в таблице 7.12.

Таблица 7.12 – Состав и численность групп исследования и контроля

Группы	абс.	%	(95% ДИ)
1 – без маркеров	26	16,77	(11,26%;23,60%)
2 – маркеры ВЭБ- и ЦМВ-инфекций	93	60,00	(51,83%;67,78%)
3 – маркер стрептококковой инфекции (АСЛ-О)	26	16,77	(11,26%;23,60%)
Группа контроля	10	6,45	(3,14%;11,54%)
Всего:	155	100	

Показатели гемостаза до оперативного лечения

Проведено изучение значений содержания тромбоцитов в крови у больных ХПЛГК в группах исследования. В таблице 7.13 представлены результаты изучения.

Таблица 7.13 – Уровни тромбоцитов у больных в группах исследования до операции, n=145

Группы исследования	Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$ ($M\pm m$)	min÷max	Me(LQ;UQ)	Референсные значения
1	269,5±10,4	165÷372	280(240;328)	180-380
2	296,0±8,8	159÷617	304(245;357)	
3	288,0±12,9	179÷424	285(224;313)	
Уровни значимости различий содержания тромбоцитов в крови у больных				
Группы исследования	Группа 2		Группа 3	
Группа 1	p>0,05		p>0,05	
Группа 2			p>0,05	

В целом в группах исследования уровни тромбоцитов в крови были схожими, не имели статистически значимых различий и находились в диапазоне референсных значений. В группе 2 отмечено минимальное значение $159 \times 10^9/\text{л}$, меньшее нижней границы нормы. Превышение верхней границы нормы в единичных случаях выявлено в группах 2 и 3 до $617 \times 10^9/\text{л}$ и $424 \times 10^9/\text{л}$ соответственно.

Среднее значение содержания тромбоцитов у больных с маркерами ВЭБ- и ЦМВ-инфекций было выше, чем в группах 1 и 3, но эти различия не были статистически значимыми.

Результаты определения АЧТВ в группах исследования представлены в таблице 7.14.

Таблица 7.14 – АЧТВ у больных в группах исследования до операции, n=145

Результаты	Группа 1 (n=26)			Статистическая значимость различий, t	Группы 2+3 (n=119)		
	абс.	%	(95% ДИ)		абс.	%	(95% ДИ)
24 – 35, с	23	88,46	(69,85%; 97,55%)	p>0,05	102	85,71	(78,12%; 91,45%)
< 24, с	0	0		p>0,05	0	0	
> 35, с	3	11,54	(2,45%; 30,15%)	p>0,05	17	14,29	(8,55%; 21,88%)

Анализ полученных данных показал более высокую долю случаев повышенных значений АЧТВ, выявленных в объединенной группе больных с маркерами герпесвирусных и стрептококковой инфекций (14,29%), в сравнении с больными без маркеров указанных инфекций (11,54%), но это различие не было статистически значимым (p>0,05).

Результаты определения % протромбина по Квику в группах исследования представлены в таблице 7.15.

Таблица 7.15 – % протромбина по Квику у больных в группах исследования до операции, n=145

Результаты	Группа 1 (n=26)			Статистическая значимость различий, t	Группы 2+3 (n=119)		
	абс.	%	(95% ДИ)		абс.	%	(95% ДИ)
80 – 120 %	23	88,46	(69,85%; 97,55%)	p>0,05	65	54,62	(45,24%; 63,77%)
< 80%	3	11,54	(2,45%; 30,15%)		54	45,38	(36,23%; 54,76%)

Анализ результатов выполненных исследований показал большую долю случаев выявления пониженных значений % протромбина по Квику в группах 2+3

у больных с маркерами герпесвирусных и БГСА-инфекций (45%) по сравнению с группой 1 (11%).

Результаты определения фибриногена в плазме крови в группах исследования представлены в таблице 7.16.

Таблица 7.16 – Фибриноген в плазме крови у больных в группах исследования до операции

Результаты	Группа 1 (n=26)			Группы 2+3 (n=119)		
	абс.	%	(95% ДИ)	абс.	%	(95% ДИ)
1,740 – 4,040, г/л	25	96,15	(80,36%; 99,90%)	114	95,80	(90,47%; 98,62%)
< 1,740, г/л	0	0		0	0	
> 4,040, г/л	1	3,85	(0,10%; 19,64%)	5	4,20	(1,38%; 9,53%)

Изучение полученных данных показало, что доля случаев выявления нормальных и повышенных уровней фибриногена в плазме крови у больных в группах 1 и 2+3 была практически одинаковой. Пониженных значений фибриногена не выявлено.

Таким образом, у больных ХПЛГК до операции в группе с маркерами ВЭБ-, ЦМВ- и БГСА-инфекций доли случаев выявления значений показателей системы гемостаза, выходящих за пределы референсных диапазонов, статистически значимо не отличались от таковых в группе 1.

Показатели гемостаза во время операции

Выполнение оперативных вмешательств на глоточной и небных миндалинах сопровождалось операционными кровотечениями в 11,7% случаев (17 чел.).

Результаты регистрации кровотечения в группах исследования во время операции представлены в таблице 7.17.

Таблица 7.17 – Операционные кровотечения в группах исследования

Группы исследования	Численность группы, абс.	Из них с кровотечениями		
		абс.	%	(95%ДИ)
1	26	2	7,69	(0,95%÷25,13%)
2	93	12	12,90	(6,85%÷21,45%)
3	26	3	11,54	(2,45%÷30,15%)
Всего:	145	17	11,72	(6,98%÷18,11%)

Изучение случаев операционных кровотечений в группах больных ХПЛГК показало, что в группе 1 без маркеров изучаемых инфекций выявлена наименьшая доля случаев – 7,6%, а в группах 2 и 3 с маркерами инфекций отмечены большие доли случаев: 12,90% и 11,54% соответственно.

В группах исследования у больных с операционными кровотечениями проведено изучение результатов анализа степени агрегации тромбоцитов, выполненных до, во время и через 1 мес. после операций. Сравнение показателей больных с кровотечениями из группы 2 и из объединенной группы 1+3 представлено в таблице 7.18.

Анализ результатов показал, что до операции у больных с операционными кровотечениями степень агрегации тромбоцитов не отличалась в группе 2 с маркерами ВЭБ- и ЦМВ-инфекций и в объединенных группах 1 (без маркеров изучаемых инфекций) и 3 (с АСЛ-О). Оперативное вмешательство сопровождалось статистически значимым снижением степени агрегации тромбоцитов в обеих сравниваемых группах, но в группе 2 с маркерами ВЭБ- и ЦМВ-инфекций степень агрегации была статистически значимо ниже. Через 1 мес. после операций степень агрегации тромбоцитов у больных с операционными кровотечениями в обеих сравниваемых группах восстановилась до первоначального уровня.

Таблица 7.18 – Результаты анализа степени агрегации тромбоцитов у больных с операционными кровотечениями

Степень агрегации тромбоцитов, %		Из группы 2 (n=12)	Статистическая значимость различий, t	Из групп 1 и 3 (n=7)
До операции	M±m	88,8±7,08	p>0,05	85,36±15,32
	min÷max	23÷118,9		45÷126,8
	Me(LQ;UQ)	100(83,4;100)		100(55;100)
Статистическая значимость различий, t		p<0,05		p<0,05
Во время операций	M±m	13,49±1,24	p<0,05	20,2±2,31
	min÷max	6,1÷23,4		14,4÷25,7
	Me(LQ;UQ)	16,35(11,25;16,35)		22,2(15;23,7)
Статистическая значимость различий, t		p<0,01		p<0,05
	M±m	94,43±4,93	p>0,05	89,02±15,7
	min÷max	67÷130,8		38,1÷123
	Me(LQ;UQ)	104(84;104)		121(76;121)

У больных без кровотечений во всех группах исследования во время операции было проведено определение показателя агрегации тромбоцитов. В таблице 7.19 приведены результаты исследований.

В разделе 7.2 (таблица 7.8) у пациентов без кровотечений уже было отмечено во время операции статистически значимое снижение степени агрегации тромбоцитов. Анализ данных показал, что в группах исследования с маркерами изучаемых инфекций и без таковых это снижение произошло до разных уровней.

Таблица 7.19 – Степень агрегации тромбоцитов во время оперативного вмешательства на миндалинах ЛГК у больных без кровотечений

Показатели	До операции, все группы, n=128	Во время операции, все группы, n=128	Группы исследования во время операции		
			1, n=24	2, n=81	3, n=23
M±m, %	116,42±5,67	35,59±2,61	46,9±5,2	34,09±3,3	29,58±5,9
Me(LQ;UQ)	110,7(100; 131,8)	21,5(11,4; 56,0)	45(23,7; 60,1)	16,7(9,9; 56,0)	21,85(9,4; 36,8)
Уровни значимости различий показателя агрегации тромбоцитов					
Группы		2		3	
1		p>0,05		p<0,05	
2				p>0,05	

Так, в группе 3 с повышенным уровнем АСЛ-О степень агрегации тромбоцитов статистически значимо более снижена по сравнению с группой 1 без маркеров инфекций ($p<0,05$). В группе с маркерами ВЭБ- и ЦМВ-инфекций уровень степени агрегации тромбоцитов тоже оказался сниженным в большей степени, чем группе 1, но различие не было статистически значимым ($p>0,05$).

Таким образом, в группах с маркерами изучаемых инфекций наблюдается более высокая доля случаев выявления нарушений тромбоцитарного звена системы гемостаза в ответ на операционную травму ($p<0,05$), что может быть опосредовано негативным воздействием хронических БГСА- и герпесвирусных (ВЭБ, ЦМВ) инфекций.

Герпесвирусы ВЭБ (HHV-4) и ЦМВ (HHV-5) обладают гепатотропностью. Инфекционный процесс сопровождается нарушением функций гепатоцитов, что опосредует нарушения системы гемостаза. Среди больных, у которых до операции были выявлены отклонения в результатах коагулологических исследований, большая часть (82%) имела в крови маркеры ВЭБ- и ЦМВ-

инфекций, и именно у этих пациентов была выявлена наибольшая величина случаев операционных кровотечений (таблица 7.17).

Результаты выполненных исследований свидетельствуют о связи временных нарушений системы гемостаза, вызванных операционной травмой, и случаев операционных кровотечений с ВЭБ- и ЦМВ-инфекциями у больных ХПЛГК. Не исключено, что восприимчивость детского организма к герпесвирусным инфекциям является одним из главных патогенетических факторов повышенной опасности развития операционного кровотечения. Этот феномен является основанием для определения у больных ХПЛГК маркеров ВЭБ-, ЦМВ- и БГСА-инфекций в целях выявления групп риска операционных кровотечений и принятия превентивных мер перед проведением хирургического лечения.

Все случаи операционных кровотечений, изученные в настоящей работе, пришлось на пациентов с отклонениями показателей гемостаза, выявленными на предоперационном этапе в результате проведения скрининговых коагулологических тестов и определения адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов. Поэтому отдельное значение имеет дополнительное использование коагулологических методов исследований у детей, учитывая, что операционные осложнения могут иметь вторичные негативные последствия, вызванные кровопотерей. Необходимо учитывать также угнетающее действие операционной травмы на тромбоцитарное звено гемостаза, выявленное у детей с ХПЛГК.

Результаты наблюдений, выполненных в настоящей работе, свидетельствуют о необходимости проведения лабораторных коагулологических исследований не только в рамках предоперационного обследования, но и выполнения мониторинга во время операции для выявления изменений системы гемостаза, сопряженных с повышенным риском развития операционных кровотечений, и принятия мер по их предупреждению. Сказанное касается, прежде всего, исследований агрегации тромбоцитов.

7.4. Динамика плазменного фибронектина на этапах оперативного лечения

В группе контроля людей в плазме около двух третей всего количества фибронектина, циркулирующего в кровяном русле, находится в интактной форме [Mosher D.F., 1978]. Поэтому в настоящей работе была выбрана тест-система иммуноферментного анализа, которая определяет интактный фибронектин и не реагирует с продуктами его расщепления. При сепсисе и ДВС-синдроме под действием пламина и эластазы лейкоцитов из интактной молекулы фибронектина образуются продукты расщепления. За счет этого происходит уменьшение в крови функционально интактного фибронектина. В физиологических условиях содержание в плазме общего фибронектина составляет в среднем 330 мкг/мл, при этом уровень нативного фибронектина колеблется от 70 до 148 мкг/мл.

Среднее значение плазменного фибронектина у больных до операции составило $153,1 \pm 61,08$ мкг/мл, что оказалось несколько выше референсных значений (70 -148 мкг/мл). В контрольной группе среднее значение плазменного фибронектина составило $126,14 \pm 26,07$ мкг/мл, что попадает в диапазон референсных значений.

Данные о содержании интактного фибронектина у больных ХПЛГК разного возраста представлены в таблице 7.20.

Таблица 7.20 – Уровни фибронектина в крови у больных ХПЛГК разного возраста до операции, мкг/мл

Возраст, годы	Среднее значение	Максимальные значения	Референсные значения
3	166,9	266,8	70 – 148
4 – 5	174,9	270,8	
6 – 7	186,1	477,4	
8 – 10	174,6	209,9	
11 – 14	173,1	209,1	

Уровни фибронектина в возрастных группах статистически не различались. Все средние значения были несколько выше референсных. Максимально высокое содержание фибронектина выявлено у пациентов возрастом 6 – 7 лет.

Результаты определения фибронектина в группах исследования представлены в таблице 7.21.

Таблица 7.21 – Содержание фибронектина в крови у больных ХПЛГК до операции, мкг/мл

Группы исследования	Число больных, n	M±m	Me(LQ;UQ)	Референсные значения
1	17	122,5±38,50	100(100;144)	70 – 148
2	75	155,8±101,24	158,3(117,5;200,2)	
3	26	181,0±43,50	189,7(148,3;200)	
Контрольная группа	10	126,14±26,07	131,35(100;149,8)	
Всего:	128	154,18±83,21	151,65(114,35;200)	
Уровни значимости различий концентрации фибронектина в группах исследования				
Группы исследования	2	3	Контрольная группа	
1	p>0,05	p>0,05	p>0,05	
2		p>0,05	p>0,05	

Анализ полученных данных показывает, что в группе 1 без маркеров инфекций 122,5±38,5 мкг/мл и в группе контроля 126,14±26,07 мкг/мл уровни фибронектина являются схожими и находятся в пределах референсных значений. В группе 2 (маркеры герпесвирусных инфекций) среднее значение фибронектина 155,8±101,24 мкг/мл превышает референсные значения. В группе 3 (АСЛ-О)

выявлен максимальный уровень фибронектина – $181 \pm 43,5$ мкг/мл. Несмотря на то, что выявленные различия между группами представляют собой только тенденцию ($p > 0,05$), они являются свидетельством влияния хронических инфекций на продукцию фибронектина.

Оценка влияния ВЭБ, ЦМВ и БГСА на содержание фибронектина с применением попарных «р» представлена в таблице 7.22.

Таблица 7.22 – Влияние ВЭБ, ЦМВ и БГСА на содержание фибронектина у больных ХПЛГК до операции

Попарные «р»	1 группа (без маркеров)	2 группа (ВЭБ+ ЦМВ)	3 группа (БГСА)	4 группа (контроль)
Среднее значение, мкг/мл	М=122,51	М=155,81	М=180,97	М=126,4
1 группа (без маркеров)		0,133	0,024*	0,911
2 группа (ВЭБ+ ЦМВ)	0,133		0,180	0,285
3 группа (БГСА)	0,024	0,180		0,075*
4 группа (контроль)	0,911	0,285	0,075	

Примечание: * – $p < 0,05$

Анализ данных показал статистически значимое различие уровней фибронектина в группах 1 и 3 ($p < 0,05$) от других групп, а также его увеличение в группе 2 (ВЭБ+ ЦМВ) и группе 3 (БГСА) в сравнении с больными группы 1 (без маркеров инфекций). Результаты этого анализа графически отражены на рисунке 7.4.

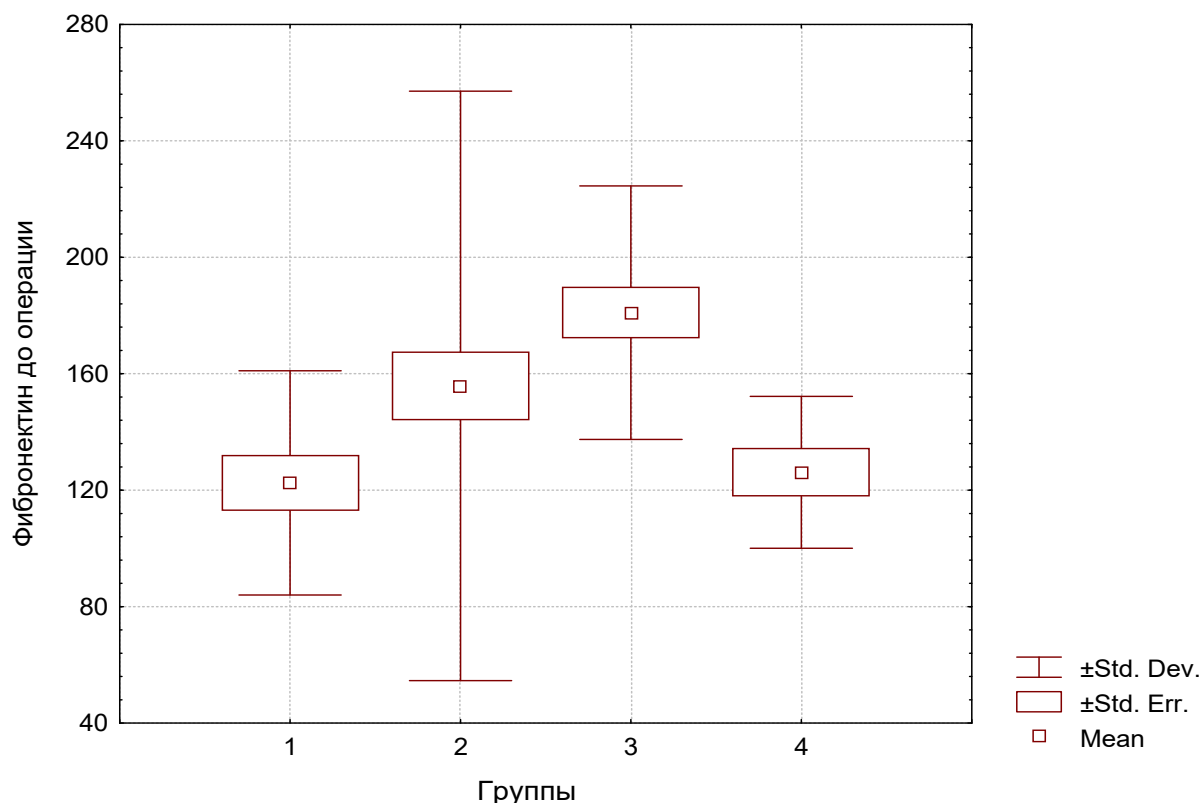


Рисунок 7.4 – Сравнение содержания фибронектина в группах исследования (1, 2, 3) и в контрольной группе (4).

Таким образом, у больных, имеющих маркеры ВЭБ-, ЦМВ- и БГСА-инфекций, выявлены повышенные уровни фибронектина в плазме крови, что может быть связано с нарушениями внешнего и внутреннего каскадов свертывающей системы.

В процессе выполнения хирургических вмешательств у больных было исследовано содержание фибронектина в плазме крови. Полученные данные были сопоставлены с результатами исследований, выполненных до операции (таблица 7.23).

Анализ полученных данных показывает уменьшение уровня фибронектина по время оперативного вмешательства от $162,13 \pm 68,88$ мкг/мл до $148,65 \pm 34,08$ мкг/мл. Выявленная динамика совпадает с результатами, полученными E. Rubli et al. (1983), которые обнаружили уменьшение концентрации фибронектина в крови после хирургических операций. Однако выявленное различие не было статистически значимым ($p > 0,05$), что, вероятно, обусловлено небольшими

объемами кровопотери во время оперативных вмешательств на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца.

Таблица 7.23 – Динамика фибронектина в крови больных ХПЛГК до и во время операции, n=32

Этапы	$M \pm m$, мкг/мл	min÷max	Me(LQ;UQ)
До операции	162,13±68,88	100÷489	140,8(124,25;187,45)
Статистическая значимость различий, t	p>0,05		
Во время операции	148,65±34,08	98÷209,1	143,6(122,35;175)

Таким образом, выполненные исследования выявили повышенные уровни фибронектина у больных с маркерами герпесвирусных и стрептококковой инфекций и уменьшение его уровней в результате проводимого оперативного вмешательства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В метаболомное исследование выдыхаемого воздуха были включены взрослые больные с хроническим компенсированным тонзиллитом (ХКТ), с хроническим декомпенсированным тонзиллитом (ХДТ) и группа контроля.

Результаты клинического анализа крови и общего анализа мочи в группах исследования и контроля во всех случаях были в референсных пределах, что совпало с данными литературы [Галанович В.Я., 1980; Лопотко И.А., 1963; Преображенский Б.С., Попова Г.Н., 1970; Солдатов И.Б., 1975, 1990, 1997]. Значения СРБ, РФ и АСЛ-О в крови были повышенными у небольшой части больных хроническим тонзиллитом, что также соответствует данным литературы [Тырнова Е.В., Мальцева Г.С., 2005; Яковенко В.Д. и соавт., 1990] и расценивается как индивидуальная характеристика клинической картины заболевания каждого больного, но ни по уровню, ни по уровню случаев выявления не может считаться характерным признаком данной патологии.

В обеих группах исследования (ХКТ и ХДТ) и контрольной группе выявлены все варианты активности иммунологической функции небных миндалин, причем в группе контроля в равных долях. Таким образом, несмотря на отличающиеся доли случаев выявления вариантов в группах исследования и контроля, не представляется возможным дифференцировать больных и людей без патологии небных миндалин, а также формы клинического течения ХТхронического тонзиллита по критерию активности иммунологической функции небных миндалин.

Бактериологические исследования небных миндалин показали в группах больных несколько большую выявляемость условно-патогенной микрофлоры в сравнении с контрольной группой и меньшую выявляемость резидентной микрофлоры. При этом у больных хроническим тонзиллитом выявлено более высокое общее бактериальное обсеменение лакун небных миндалин по сравнению с группой контроля.

Среди условно-патогенных микроорганизмов наиболее часто высевался

Staphylococcus aureus, у больных хроническим тонзиллитом несколько чаще, чем в группе контроля, а *Streptococcus pyogenes* и *Klebsiella* выявлены только в малой части случаев. Эти результаты согласуются с исследованиями авторов, выявлявших большую частоту распространенности золотистого стафилококка как среди больных, так среди лиц без патологии небных миндалин [Лопотко И.А., 1963; Мельников О.Ф., 1981].

Из вышесказанного ясно, что данные, полученные с помощью клинических методов, методов определения СРБ, РФ и АСЛ-О, исследований иммунологической функции небных миндалин и бактериологического изучения их микрофлоры не позволяют статистически значимо дифференцировать формы хронического тонзиллита между собой и отличать их от состояния здоровых людей.

В связи с этим у больных хроническим тонзиллитом и в группе контроля было проведено метаболомное исследование выдыхаемого воздуха с помощью технологии электронного носа. Для этого использовали анализатор «Мультисенс-5», в конструкцию которого входят пять полупроводниковых резистивных сенсоров, чувствительных к различным летучим компонентам выдыхаемого воздуха.

Выявлены статистически значимые различия между больными хроническим тонзиллитом в целом и контрольной группой по показаниям четырех из пяти сенсоров. Максимальное среднее значение уровня сигнала получено по сенсору, чувствительному к ЛЖК, как в группах больных хроническим тонзиллитом, так и в группе контроля. И наибольшие различия между больными и группой контроля получены именно по этому сенсору.

Между группами больных хроническим компенсированным тонзиллитом и хроническим декомпенсированным тонзиллитом выявлены статистически значимые различия по уровням алканов, спиртов, аммиака и ацетона. При этом средние значения сигналов сенсоров в группе больных хроническим компенсированным тонзиллитом превышают таковые в группе хроническим декомпенсированным тонзиллитом.

С целью определения, насколько специфический профиль летучих соединений в выдыхаемом воздухе больных ХТ опосредован именно патологией небных миндалин, в настоящей работе проведен повторный метаболомный анализ выдыхаемого воздуха у больных хроническим тонзиллитом, получивших консервативное лечение и перенесших тонзиллэктомию.

У больных хроническим компенсированным тонзиллитом в результате консервативного лечения значения сигналов всех сенсоров статистически значимо уменьшились и приблизились к значениям в группе контроля людей. Следовательно, с помощью метаболомного анализа выдыхаемого воздуха в процессе динамического наблюдения можно оценить состояние небных миндалин и эффективность проводимой терапии.

У больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом через 1 мес после тонзиллэктомии также произошло снижение уровней сигналов всех пяти сенсоров. Указанные изменения имели статистическую значимость по четырем сенсорам из пяти: 1 (алканы), 3 (спирты), 4 (аммиак) и 5 (ацетон). Полученные данные позволяют считать, что именно хроническое воспаление небных миндалин определяет характер спектра летучих соединений в выдыхаемом воздухе, который позволяет отличать больных хроническим тонзиллитом от людей без патологии небных миндалин.

При сопоставлении результатов исследования показателей иммунологической функции небных миндалин и выдыхаемого воздуха в группе больных хроническим компенсированным тонзиллитом было обнаружено, что, чем выше бактериальная обсемененность лакун небных миндалин и чем меньше в них содержание лимфоцитов, тем больше значение показаний сенсора, чувствительного к летучим жирным кислотам. В группе больных ХДТ содержание лимфоцитов в лакунах небных миндалин было в несколько раз выше, чем в группе с хроническим компенсированным тонзиллитом, что происходило на фоне меньшей бактериальной обсемененности небных миндалин и снижением содержания летучих жирных кислот в выдыхаемом воздухе. В контрольной группе выявлены максимальное содержание лимфоцитов в лакунах

небных миндалин и минимальное их бактериальное обсеменение при минимальных уровнях ЛЖК в выдыхаемом воздухе.

Летучие жирные кислоты (ЛЖК) являются продуктом метаболизма микроорганизмов [Allen S.D. et al., 1995; Alugupalli S. et al., 1994; Brondz I., Olsen I., 1991; Sonesson A. et al., 1987] и оказывают влияние на иммунитет организма хозяина [Бабин В.Н., Минушкин О.Н., 1998; Белобородова Н.В., Осипов Г.А., 2000]. Именно этим можно объяснить снижение содержания лимфоцитов в лакунах небных миндалин на фоне увеличения содержания ЛЖК в выдыхаемом воздухе и высокого бактериального обсеменения.

Имеются сообщения о диагностическом значении ЛЖК при патологии ЖКТ [Ардатская М. Д., 2000], но при хроническом тонзиллите эти данные получены впервые.

Помимо ЛЖК и ряд других летучих веществ, к которым были чувствительны остальные сенсоры, оказался повышенным в выдыхаемом воздухе у больных хроническим тонзиллитом. Данный факт свидетельствует, что хроническое воспаление тканей небных миндалин и метаболиты погибших в них микроорганизмов опосредуют выделение алканов, ЛЖК, спиртов, аммиака и ацетона, которые регистрируются в повышенных концентрациях в выдыхаемом воздухе человека. Не исключено, что летучие вещества, образующиеся в глубоких отделах небных миндалин, поступают в кровоток, а оттуда через легкие выделяются с выдыхаемым воздухом.

Подводя итоги по этому разделу работы, можно заключить, что патологические процессы в небных миндалинах при хроническом тонзиллите обуславливают статистически значимое повышение содержания летучих компонентов в выдыхаемом воздухе, которое отличает больных хроническим тонзиллитом от лиц без патологии небных миндалин, а применение технологии «электронного носа» позволяет объективно регистрировать эти характерные отличия.

Результаты клинического обследования больных хроническим гнойным средним отитом свидетельствуют, что по жалобам и анамнестическим данным

выявление холестеатомы невозможно. Отоскопия только при тотальной перфорации барабанной перепонки позволяет выявить картину кариозного распада костной ткани, ограничивающей наружный слуховой проход. Чувствительность компьютерной томографии для идентификации холестеатомы по результатам настоящей работы составила 71%, специфичность – 55%, что соответствует данным литературы [Бояджан Г.Г., 1999; Дмитриев Н.С. и соавт., 2001; Егоров Л.В. и соавт., 2004; Завадский А.В., 2002]. Акуметрическое и аудиологическое обследование больных ХГСО не позволяло выявить характерные для холестеатомы изменения, что подтверждает данные других авторов [Воячек В.И., 1953; Иванец И.В., 1992].

Результаты биохимических анализов крови показали, что доля случаев выявления повышенных уровней общего холестерина и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) у больных хроническим гнойным средним отитом с мезотимпанитом без холестеатомы оказалась выше, чем у пациентов с эптитимпанитом и холестеатомой. Снижение в крови содержания ЛПВП сопровождалось уменьшением уровней триглицеридов и ЛПОНП. Статистически значимое снижение липопротеидов высокой плотности (α -холестерина) выявлено в группах больных вне зависимости от наличия холестеатомы. Таким образом, предположение В.П. Ситникова (1985) о связи холестеатомного процесса в среднем ухе с нарушением общего обмена липидов в организме не получило подтверждение в настоящем исследовании.

Определение липидов в регионарных внешних секретах (слюна, отделяемое из слуховой трубы) после транстимпанального нагнетания воздуха показало статистически значимо более низкий уровень содержания холестерина у больных хроническим гнойным средним отитом с эптитимпанитом и холестеатомой по сравнению и с больными с мезотимпанитом, и с группой контроля.

При патологогистологическом исследовании операционного материала на препаратах были обнаружены кистообразные структуры. Внутри их соединительнотканной оболочки присутствовали массы слущившегося ороговевшего эпителия, некоторая часть которого содержала холестерин. В

цитоплазме эпителиальных клеток внутриклеточные липиды отсутствовали. В целом результаты патологогистологических исследований указывают на внеклеточную локализацию основной массы липидов в холестеатоме среднего уха. В отдельных макрофагальных клетках, которыми являются, скорее всего, «пенистые» клетки, содержатся липиды. Источником липидов в этих клетках является слущившийся ороговевающий эпителий.

Эти данные можно объяснить нарушением транспорта холестерина из очага холестеатомного процесса. Это происходит за счет снижения способности тканевого холестерина обмениваться с холестерином плазмы, что является одним из патогенетических факторов, обуславливающих недоброкачественное течение заболевания.

Была изучена морфологическая картина препаратов слюны больных хроническим гнойным средним отитом в трех пробах [Самбулов В.И. и соавт., 1999]. В препаратах третьей порции слюны маркер застойных явлений вновь появлялся у 80% больных с эпитимпанитом и холестеатомой, только у 4% больных с мезотимпанитом и отсутствовал в группе контроля. Аналогичные результаты представлены в работе В.И. Самбулова (2003), посвященной диагностике холестеатомы у детей.

При исследовании порций слюны методом краевой дегидратации [Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., 2001] в отличие от результатов, полученных В.И. Самбуловым (2003) при обследовании детей, пластинчатый морфотип присутствовал в препаратах всех трех порций во всех группах исследования и контроля. В связи с этим не представилась возможность определить диагностическое значение исследования слюны методом краевой дегидратации.

При изучении препаратов отделяемого из среднего уха с холестеатомой морфологическая картина была представлена в трех вариантах, различающихся содержанием органических веществ. Этот феномен может быть опосредован следующими вариантами состояния функции слуховой трубы:

- нарушенная функциональная активность обуславливает низкое содержание белковых и других органических компонентов в отделяемом из слуховой трубы;

- нормальная функциональная активность обеспечивает эвакуацию продуктов деградации тканей полости среднего уха и сопровождается высоким содержанием белка и других органических веществ в отделяемом из среднего уха.

При ХГСО с мезотимпанитом морфологическая картина препаратов характеризовалась во всех случаях низким содержанием органических веществ.

При исследовании препаратов отделяемого из слуховой трубы, приготовленных методом краевой дегидратации, во всех случаях было выявлено наличие пластинчатых морфотипов, что не позволило использовать этот критерий для диагностики холестеатомы среднего уха.

В итоге результаты проведенной работы в данном разделе диссертации позволяют констатировать, что морфологический анализ твердой фазы регионарных внешних секретов (слюны и экссудата барабанной полости) позволяет оценить патологические изменения в барабанной полости при холестеатоме и является информативным дополнительным методом лабораторной диагностики холестеатомы среднего уха.

В настоящей работе изучены важные показатели и факторы системы иммунитета при бактериальном наружном диффузном отите (БНДО) до и после лечения. Это связано с тем, что в публикациях рассмотрены различные аспекты проблемы этого заболевания, но при этом ряд вопросов, имеющих отношение к иммунопатогенезу, остаются неизученными. Отсутствие данных о состоянии системы врожденного иммунитета затрудняет выбор адекватных методов лечения и оценку их эффективности.

Обследованы больные БНДО, разделенные на три группы в зависимости от тяжести клинической картины заболевания и вида терапии, и люди без патологии ЛОР- и внутренних органов, составившие контрольную группу.

Первичные микробиологические исследования показали у всех больных бактериальное присутствие в очаге воспаления. В большей части случаев

бактериальная флора была представлена *Pseudomonas aeruginosa* (69%) и *Staphylococcus aureus* (26%). Полученные данные совпадают с некоторыми данными литературы по повышению в последнее время выявления синегнойной палочки и снижению высева золотистого стафилококка [Заварзин Б.А., Аникин И.А., 2011; Страчунский Л.С. и соавт., 2002; Hajioff D., Mackeith S., 2010] и противоречат данным С.Б. Мосихина и соавт. (2016) о сохранении доминирующего значения *Staphylococcus aureus* в этиологии бактериальных наружных отитов.

У всех штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* выявлена резистентность к гентамицину и левомицетину, которые входят в состав ушных капель, применяемых при лечении наружных отитов, что указывает на необходимость привлечения дополнительных методов лечения помимо антибиотикотерапии.

После лечения больных БНДО случаи высева патогенной микрофлоры у них значительно снизились, в т.ч. синегнойной палочки. В группах с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию и фитотерапию, выявлено появление чувствительности *Pseudomonas aeruginosa* к гентамицину и левомицетину. Именно у этих больных выявлено повышение продукции антимикробных пептидов β -дефенсина и кателицидина LL-37. Полученные данные соответствуют данным литературы о воздействии антимикробных белков и пептидов на изменение лекарственной чувствительности синегнойной палочки, выявленном при других видах патологии [Кокряков В.Н., 2006]. У больных с менее выраженной клинической картиной заболевания, получавших традиционное лечение, отсутствие увеличения уровней β -дефенсина и LL-37 сопровождалось сохранением резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к гентамицину и левомицетину.

В клиническом анализе крови в группах исследования выявлен лейкоцитоз и повышение СОЭ, уровни которых статистически значимо не различались между группами. В лейкоцитарной формуле палочкоядерный сдвиг отсутствовал. Но расчет абсолютного содержания показал статистически значимое повышение

палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов в крови у больных всех трех групп.

Новыми данными, не описанными ранее в литературе, было выявление повышенного содержания базофилов в крови больных БНДО во всех группах. Этот феномен объясняется важной ролью базофилов не только в защитных реакциях организма на инвазии и в патогенезе аллергии, но и в процессах воспаления в локальных очагах инфекции, к числу которых относится БНДО. Из кровяного русла базофилы проникают в очаг инфицирования, где происходит дегрануляция и выброс медиаторов, которые вызывают в окружающей ткани усиление кровотока, увеличение проницаемости сосудов, отек и другие проявления воспаления с привлечением нейтрофилов [Sullivan B.M., Locksley R.M., 2009].

Наружный бактериальный диффузный отит до настоящего времени представляли преимущественно локальным воспалительным процессом, существенно не сопровождающимся общей реакцией организма [Плужников М.С. и соавт., 2000]. Однако результаты клинического анализа крови свидетельствуют о системной реакции организма.

На фоне проводимого лечения и положительной динамики клинической картины заболевания у больных БНДО во всех группах отмечено уменьшение базофилии, но уровни остались превышающими норму. В группах больных с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию и фитотерапию, произошла нормализация всех повышенных показателей за исключением базофилов. У больных, получавших традиционное лечение, остались повышенными средние значения содержания в крови лейкоцитов и СОЭ.

Сохранение базофилии на стадии выздоровления у больных БНДО, отмеченное в настоящей работе, соответствует данным литературы об увеличении содержания и активности этой субпопуляции лейкоцитов при репаративных процессах соединительной ткани в поствоспалительном периоде [Белоцкий С.М., Авталион Р.Р., 2006].

До начала лечения во всех группах больных БНДО выявлено статистически значимое угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов крови. Наибольший дефицит фагоцитарной активности наблюдался в группе больных, которая отличалась наименьшей долей случаев повышения температуры тела, что также свидетельствует о снижении общей иммунологической реактивности организма.

В результате лечения произошла нормализация фагоцитарной активности нейтрофилов, но в группах с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию и фитотерапию, – у значительно большей части пациентов. Неполное восстановление фагоцитарной активности нейтрофилов объясняется мягким регуляторным воздействием местной аутогемотерапии и настоя чистотела на систему врожденного иммунитета, на который указывает ряд исследователей [Гетте В.А., Бараненко В.В., 1982; Гребенщикова Л.А., Яременко К.В., 1994; Лоцманов Н.А., Князев А.Б., 1998; Цкоева А.Ю., 2002].

При поступлении на стационарное лечение повышенный уровень СРБ выявлен у большинства больных БНДО. В результате лечения во всех группах исследования прослеживается статистически значимое снижение уровней СРБ в крови до нормальных. При этом динамика СРБ в группах, получавших аутогемотерапию и фитотерапию, отличается статистически значимо более ранним и существенным снижением этого показателя. Сопоставление результатов определения С-реактивного белка и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови выявило некоторое несоответствие полученных данных одной из функций СРБ. Так, известно, что связывание СРБ с бактериями и мембранами иммунокомпетентных клеток приводит к активации фагоцитоза [Васильев А.Г., Чурилов Л.П., 2006]. При бактериальных наружных диффузных отитах наоборот, повышение СРБ в крови сопровождается снижением фагоцитарной активности нейтрофилов крови.

Можно предположить, что при этой патологии формируются нарушения фагоцитарной активности нейтрофилов, опосредованные факторами, при которых физиологическая стимуляция фагоцитоза С-реактивным белком оказывается

неэффективной. Подобные нарушения могут быть опосредованы с одной стороны продуктами жизнедеятельности патогенов, а с другой стороны – побочным иммуносупрессивным действием антибактериальных и противовоспалительных лекарственных препаратов [Кормейн Р.Х., Асгар С.С., 1983; Шенкман Б.З. и соавт., 1996].

Во всех группах исследования до лечения выявлено повышение содержания другого острофазового белка LBP в венозной и капиллярной (из мочки больного уха) крови по сравнению со контролем, однако различия оказались статистически значимыми только для больных с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию и фитотерапию.

В группе больных с менее выраженной клинической картиной заболевания исходно нормальный уровень LBP в результате традиционного лечения статистически значимых изменений не претерпел. В группах с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию и фитотерапию, уровень LBP снизился почти до уровня контрольной группы. Аналогичная динамика выявлена и в капиллярной крови, взятой из мочки больного уха.

Согласно существующим представлениям при воспалительном процессе в динамике содержания в крови LBP и СРБ, а также между уровнями этих белков и уровнями СОЭ и лейкоцитов крови нет полного соответствия [Кокряков В.Н., 2006]. Уровень СРБ при развитии воспаления возрастает раньше, чем СОЭ, но позже уровни СРБ и СОЭ оказываются одновременно повышенными [Титов В.Н., 2004]. В отличие от имеющихся данных литературы анализ результатов исследований, проведенных в настоящей работе, свидетельствует об увеличении всех перечисленных показателей при бактериальном наружном диффузном отите.

Разница в исходных уровнях белков острой фазы у больных БНДО указывала на большую чувствительность теста СРБ для определения воспалительной реакции, но повышение уровня LBP указывало на более тяжелое клиническое течение бактериального наружного диффузного отита. Динамика СРБ в процессе лечения в группах исследования была схожей – от высоких

значений до нормализации. В отношении белка, связывающего липополисахариды, наблюдается иная картина. Его уровень в группе традиционного лечения с менее выраженной воспалительной реакцией изначально не был повышен. После лечения в этой группе его снижение не было статистически значимым, а в других группах исследования – полная нормализация, что соответствовало разной степени элиминации патогенных бактерий из очага воспаления. Похожие результаты, свидетельствующие о лучшей диагностической эффективности LBP по сравнению с СРБ и уровнем лейкоцитов, были получены у больных с сепсисом [Chen K.F. et al., 2016; Ratzinger F. et al., 2013], но при БНДО эти данные получены впервые.

Таким образом, БНДО в большинстве случаев сопровождается увеличением содержания LBP и в венозной, и в капиллярной крови, но в очаге воспаления его уровень более высокий, чем в венозной крови. Впервые полученные данные свидетельствует о важной роли LBP в воспалительном ответе на инфекцию при бактериальном наружном диффузном отите, а отсутствие повышения LBP в крови при БНДО является фактором затяжного и рецидивирующего клинического течения заболевания и может рассматриваться в качестве предиктора неблагоприятного клинического течения заболевания.

При первичном обследовании во всех группах больных БНДО выявлены повышенные уровни α -дефенсинов. Определение β -дефенсина (hBD-2) также показало увеличение его средних значений у всех больных БНДО, но статистически значимым характер различий был только в группах больных с более выраженной клинической картиной заболевания.

На фоне проведенного лечения в группе с менее выраженной клинической картиной заболевания (традиционная терапия) уровни α - и β -дефенсинов статистически значимо увеличились. В группах с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию и фитотерапию, напротив, наблюдалось понижение средних значений обоих дефенсинов. Выявленная разнонаправленность динамики дефенсинов в крови в процессе лечения больных БНДО обусловлена разной степенью элиминации патогенов из очага воспаления.

Так, снижение высеваемости патогенных бактерий сопровождается снижением в крови дефенсинов и наоборот.

В значительной степени разнонаправленность динамики дефенсинов в крови объясняется и разным в группах исходным состоянием системы врожденного иммунитета, которое обуславливает и разную клиническую картину заболевания. Полученные данные соответствуют современным представлениям о роли дефенсинов в реакциях системы врожденного иммунитета на инфекцию, в частности об участии этой группы антимикробных пептидов в воспалительных заболеваниях кожи [Кокряков В.Н. и соавт., 2006; Будихина Л.С., Пинегин В.В., 2008; Levy O., 2004; Niyonsaba F. et al., 2007; Hazlett L., Wu M., 2011], но при бактериальном наружном диффузном отите эти данные представлены впервые.

Первичное обследование больных БНДО в группе с менее выраженной клинической картиной заболевания (традиционная терапия) показало увеличение среднего значения катионного белка кателицидина LL-37 в крови по сравнению с группой контроля, но различие не было статистически значимым. По имеющимся в литературе данным снижение уровня в крови LL-37 расценивается как предрасполагающий фактор для рецидивов и указывает на его важное значение в защите кожи от инфекции [Frohm M. et al., 1997; Ong P.Y. et al., 2002; Yang D. et al., 2004]. Напротив, увеличение содержания в крови кателицидина LL-37 – это проявление реакции системы врожденного иммунитета на бактериальную инфекцию. На фоне проведения курса терапии уровень LL-37 в крови в группе традиционного лечения несколько увеличился, но это изменение не было статистически значимым. В группах, получавших аутогемотерапию и фитотерапию, напротив, исходно повышенные уровни кателицидина LL-37 в крови статистически значимо снизились. Эти данные получены впервые.

Таким образом, недостаточная продукция LL-37 при БНДО является фактором затяжного и рецидивирующего клинического течения заболевания и может рассматриваться в качестве предиктора неблагоприятного клинического течения заболевания.

Исходное содержание ВРІ в крови у больных БНДО во всех группах было в 10 – 15 раз выше, чем в группе контроля. Этот факт свидетельствует об активной антимикробной реакции системы врожденного иммунитета на бактериальную инфекцию при наружном диффузном отите. После проведения лечения у больных с менее выраженной клинической картиной заболевания (традиционная терапия) наблюдалось продолжение повышения в крови уровня ВРІ. Этот факт является свидетельством неполной эрадикации патогенных бактерий в очаге инфекции, что подтверждается результатами бактериологических исследований.

В группах с более выраженной клинической картиной заболевания с применением местной аутогемотерапии или фитотерапии наблюдалась обратная динамика – статистически значимое снижение уровней ВРІ, что, в свою очередь, свидетельствует о санации очага воспаления, подтверждаемой также повторными бактериологическими исследованиями.

Таким образом, продукция антимикробных белков и пептидов при БНДО может существенно отличаться. В зависимости от состояния системы врожденного иммунитета формируется та или иная клиническая картина заболевания. Исходно небольшое повышение продукции антимикробных белков и пептидов или его отсутствие в начале инфекционного воспаления следует расценивать как недостаточную реакцию системы иммунитета. Именно у таких больных с отсутствием увеличения уровней α - и β -дефенсинов, LL-37 и LBP выявлено в анамнезе большее количество эпизодов наружного отита, а в клинической картине – постепенное начало заболевания и менее выраженная симптоматика. Аналогичная взаимосвязь, но при другой патологии, показана и в работе А.В. Караулова и соавт. (2012), которые обнаружили снижение продукции LL-37 и hBD-2 при рецидивирующих гнойничковых заболеваниях кожи.

Снижение после лечения исходно повышенного уровня антимикробных белков и пептидов свидетельствует об эффективности действий всех факторов и механизмов системы иммунитета.

При исследовании состояния антителиогенеза основных классов иммуноглобулинов в крови у больных до лечения выявлено статистически

значимое снижение содержания иммуноглобулинов М и G на фоне повышенного уровня цитокина IL-6, который активирует пролиферацию В-лимфоцитов и продукцию иммуноглобулинов [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008]. Этот дисбаланс свидетельствует о нарушении регуляции иммунологических механизмов при БНДО.

Понижение содержания общих иммуноглобулинов в крови происходит в результате нарушения их продукции или усиления катаболизма и свидетельствует о снижении активности механизмов иммунитета [Кетлинский Л.С., Смирнов В.С., 2000]. Полученные впервые при БНДО данные свидетельствуют о вторичной иммунологической недостаточности, клиническим проявлением которой может быть инфекционный синдром в виде рецидивирующих инфекционных заболеваний кожи [Караулов Л.В. и соавт., 2012; Кетлинский Л.С., Смирнов В.С., 2000; Кормейн Р.Х., Асгар С.С., 1983].

После лечения у больных с менее выраженной клинической картиной заболевания (традиционная терапия) произошло еще большее уменьшение содержания IgG в крови. В результате проведения курсов лечения с аутогемотерапией или фитотерапией у больных с более выраженной клинической картиной заболевания отмечена нормализация уровней иммуноглобулинов классов IgM и IgG в крови. Этот феномен не совпадает данными некоторых литературных источников о том, что препараты чистотела не оказывают влияние на общие иммуноглобулины крови [Лавренова Г.В., Яременко К.В., 1995].

В 47% случаев больных БНДО выявлено статистически значимое повышение в крови общего иммуноглобулина Е. После лечения в группе традиционной терапии сохранился его исходный уровень. Напротив, в группе больных, получавших аутогемотерапию, и, в большей степени, в группе больных, получавших фитотерапию, произошло снижение общего IgE.

Отсутствие полной нормализации уровня общего IgE в крови у больных, получавших аутогемотерапию, казалось бы, идет вразрез с мнением ряда авторов, что применение аутогемотерапии при лечении аллергических заболеваний ЛОР-органов позволяет в короткие сроки получить положительный клинический

эффект [Лоцманов И.А., Князев А.Б., 1998; Цкоева А.Ю., 2002]. Однако считать бактериальный наружный диффузный отит аллергическим заболеванием только за счет повышенного уровня общего IgE не следует, т.к. продукция этого иммуноглобулина увеличивается и при многих других видах патологии [Железникова Г.Ф., 2002, 2015].

Снижение общего IgE в крови на фоне повышения (нормализации) уровней общих иммуноглобулинов классов IgM и IgG подтверждает собственное предположение о компенсаторном характере увеличения общего IgE в ответ на гипоиммуноглобулинемию при воспалительной патологии инфекционного генеза. Это предположение подкрепляется многочисленными исследованиями, показывающими, что бактерии и их экзотоксины являются эффективными индукторами синтеза IgE-антител [Edelman K. et al., 1999; Qadri F. et al., 2000; Железникова Г.Ф. и соавт., 2000]. В литературе имеются данные, указывающие на участие IgE в ответе системы иммунитета на инфекцию. Но пока нет единого мнения, какую же роль – негативную или протективную, выполняет продукция IgE [Железникова Г.Ф., 2002, 2015].

В пользу протективного значения IgE говорят данные, полученные в работе Z. Ahmadinejad и соавт. (2011) при изучении исходного иммунодефицита в развитии бактериального менингита. Авторы считают, что основным фактором риска развития бактериального менингита служит дефицит иммуноглобулинов в крови, в первую очередь IgE. Кроме того, повышенный уровень IgE в крови выявлен у детей, у которых иммунизация дифтерийно-коклюшно-столбнячной вакциной не привела к ожидаемой продукции иммуноглобулинов IgM и IgG [Prescott S.L. et al., 1998].

Т.А. Дружинина и соавт. (2008) обнаружили повышенный уровень IgE у 41 – 67% пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями, что послужило основанием считать его маркером неблагоприятного клинического течения. Однако в указанной работе не были определены уровни основных классов иммуноглобулинов. Не исключено, что при их дефиците возникает компенсаторная продукция антител IgE, которые не являются полноценной

заменой. В этом случае неблагоприятное течение гнойно-воспалительных заболеваний может быть обусловлено не высоким уровнем IgE, а низкими уровнями иммуноглобулинов А, М, G.

Отрицательная корреляция уровня общего иммуноглобулина IgE в крови и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови, выявленная при первичном обследовании больных БНДО, также присутствовала и после лечения. Этот факт, выявленный впервые при бактериальном наружном диффузном отите подтверждает закономерность патогенетической связи повышенного уровня общего иммуноглобулина Е в крови и недостаточности фагоцитарной активности нейтрофилов крови. Р.Х. Кормейн и С.С. Асгар (1983) указывают на аналогичный феномен у больных с патологией кожи. Имеются также литературные данные, что иммунные комплексы, содержащие IgE, оказывают супрессивный эффект на хемотаксис нейтрофилов [Ito S. et al., 1983]. Не исключено и непосредственное воздействие IgE на лектиноподобные рецепторы нейтрофилов Mac-2/epsilon BP [Truong M.J., 1993].

Первичное изучение статуса провоспалительных цитокинов у больных БНДО показало, что клиническая картина начала заболевания характеризуется повышенным уровнем в крови IL-6 и отсутствием роста продукции IL-1 β и TNF- α . При таких показателях нельзя считать реакцию систем организма больных БНДО недостаточной, т.к. IL-6 сопровождает переход от реализации факторов врожденного иммунитета к запуску механизмов приобретенного иммунитета [Kishimoto T., 2006]. IL-6 в частности активирует белки острой фазы воспаления, пролиферацию В-лимфоцитов и продукцию иммуноглобулинов [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008].

На фоне проведенного лечения в группе больных с менее выраженной клинической картиной заболевания уровень IL-1 β остался прежним, статистически значимо пониженным по сравнению с контрольной группой. Напротив, в группах больных с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию или фитотерапию, выявлено повышение уровня IL-1 β .

В отличие от IL-1 β направленность динамики IL-6 у больных БНДО была противоположной. Так, в группе больных с менее выраженной клинической картиной заболевания после традиционного лечения отмечено дальнейшее увеличение уровня IL-6. Напротив, в группах больных с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию и фитотерапию, отмечено статистически значимое снижение уровней IL-6 до нормальных значений. Такая динамика IL-6, выявленная впервые при БНДО, соответствует процессам нормализации в результате лечения уровней острофазовых белков (СРБ и LBP), антимикробных белков и пептидов и фагоцитарной активности нейтрофилов крови.

Дальнейшее увеличение уровня IL-6, выявленное у больных с менее выраженной клинической картиной после проведенного традиционного лечения, происходило на фоне ухудшения показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови, роста уровней α - и β -дефенсинов, кателицидина LL-37 и BPI-белка, что указывает на неполное восстановление системы иммунитета.

Исходное содержание TNF- α в крови у больных БНДО не имело статистически значимых различий с контрольной группой. Отсутствие продукции TNF- α могло быть неблагоприятным фактором, на фоне которого развивалось бактериальное воспаление кожи наружного слухового прохода. Вместе с тем, имеются литературные данные, указывающие на подавление продукции IL-1 β и TNF- α при повышении уровня IL-6 [Симбирцев А.С., 2011].

В результате традиционного лечения содержание TNF- α в крови у больных с менее выраженной клинической картиной не изменилось и осталось на уровне группы контроля. В группах с более выраженной клинической картиной, получавших аутогемотерапию или фитотерапию, выявлено статистически значимое снижение TNF- α как по сравнению с его уровнем до лечения, так и с группой контроля.

Нормализация сниженных исходно уровней IL-1 β , а также снижение повышенных до лечения значений TNF- α и IL-6 является свидетельством более выраженного противовоспалительного и иммунорегуляторного эффекта методов

местной аутогемотерапии и фитотерапии настоем чистотела по сравнению с традиционным лечением бактериального наружного диффузного отита.

В целях изучения этиопатогенетической роли латентных инфекций при экссудативном среднем отите у детей на фоне хронической патологии лимфоэпителиального глоточного кольца выполнено клиническое и лабораторное обследование больных с верифицированным диагнозом «экссудативный средний отит, хронический лимфопролиферативный синдром».

Собственные данные о выявлении маркеров ВЭБ-, ЦМВ-, микоплазменной и хламидофилезной инфекций у детей в целом совпадают с данными литературы о частоте носительства данных патогенов [Яцык Г.В. и соавт., 2009; Nagay Z.J. et al., 1996; Niedobitek G. et al., 2000], однако связь их хронической персистенции с характером клинической картины заболевания изучена впервые.

Больные ЭСО были разделены на три группы исследования в зависимости от наличия в крови и сочетания иммунологических маркеров латентных инфекций. Одну группу составили пациенты, в пробах которых были выявлены маркеры только герпесвирусных инфекций. Во вторую группу вошли больные с наличием маркеров четырех латентных инфекций: ЦМВ, ВЭБ, *Chlamydophila pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae*. Больные, у которых в крови отсутствовали маркеры латентных инфекций, были включены в третью группу.

Выявлено, что наибольшая доля случаев выявления гипертрофии небных миндалин 2 и 3 степени и значительного увеличения лимфатических узлов (размер более 1,5 см, или пакеты) наблюдается в группе с наличием маркеров герпесвирусных инфекций. Таким образом, лимфопролиферативный синдром был наиболее выраженным у больных с маркерами герпесвирусных инфекций.

При изучении стадий ЭСО у большинства больных была выявлена экссудативная стадия секреторного среднего отита, в меньших долях – катаральная и мукозная («клейкое ухо»). Различия частоты стадий ЭСО у обследованных пациентов были статистически значимыми. При сравнении доли случаев выявления различных стадий ЭСО в группах больных различий не обнаружено. Это объясняется тем, что стадии принадлежат к одному

заболеванию, сменяя одна другую. А различие величины случаев выявления той или иной стадии обусловлено их различной длительностью и степенью субъективных клинических проявлений, которые являются причиной обращения больных за медицинской помощью.

Изучение связи латентных инфекций и аллергических состояний показало, что в группе с маркерами четырех латентных инфекций зарегистрированы статистически значимо более частые проявления пищевой аллергии, а также частые сочетания пищевой и/или лекарственной и/или бытовой аллергий и случаи атопического дерматита. В литературе имеются указания, что аллергическое воспаление слизистой оболочки полости носа и носоглотки может способствовать ухудшению показателей дисфункции слуховой трубы, и, как следствие, опосредовать развитие экссудативного среднего отита [Бурмистрова Т.В., 2004; Лопатин А.С., 2003; Döner F. et al., 2004]. Однако участие изученных латентных инфекций в этиопатогенезе аллергии у больных ЭСО показано впервые.

Результаты клинического анализа крови показали, что у больных групп с маркерами латентных инфекций по сравнению с пациентами без таковых чаще выявлялся лейкоцитоз. Эозинофилия обнаруживалась статистически значимо чаще у больных с маркерами четырех латентных инфекций.

В мазке из полости носа эозинофилия и лимфоцитоз обнаружены у больных с маркерами четырех латентных инфекций также статистически значимо чаще. Нормальный тип клеточного состава доминировал в группе без маркеров латентных инфекций, кроме того, у этих больных выявлена наибольшая встречаемость нормального уровня в крови общего IgE. В группе с маркерами четырех латентных инфекций повышенное содержание иммуноглобулина Е определялось статистически значимо чаще. При этом его уровень у больных с маркерами герпесвирусных инфекций было статистически значимо выше, чем у больных без маркеров латентных инфекций.

Таким образом, результаты микроскопии окрашенных мазков отделяемого из полости носа, клинического анализа крови и определения в крови общего

иммуноглобулина Е свидетельствуют о большей аллергизации организма у больных ЭСО с наличием в крови маркеров *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae*.

Результаты цитологических и иммунологических исследований смывов из барабанной полости больных ЭСО показали, что наиболее часто в экссудате среднего уха у больных ЭСО выявлялось повышенное содержание нейтрофилов и лимфоцитов, соответствующее воспалительному и воспалительно-регенераторному типам процессов. Повышенное содержание эозинофилов было выявлено только в малой части случаев, что не исключает участие аллергического компонента в патогенезе ЭСО.

Определение провоспалительных цитокинов в смывах из полости среднего уха показало увеличение продукции IL-1 β и IL-6 на фоне неизмененного уровня противовоспалительного цитокина IL-1ra у больных с наличием в крови маркеров латентных инфекций, что может рассматриваться как свидетельство более неблагоприятного течения патологического процесса в полости среднего уха. Собственные результаты, впервые полученные при экссудативном среднем отите, соответствуют данным литературы о том, что при многих прочих патологических состояниях группа провоспалительных цитокинов участвует на всех этапах развития и реализации иммунологического ответа на инфекцию – в обеспечении локализации и эрадикации патогенов, а затем и репаративных процессов [Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж., 2008; Симбирцев А.С., 1998, 2002; Smirnova M.G. et al., 2002].

Баланс цитокинов IL-4 и IFN- γ был изучен в смывах из полости среднего уха у больных ЭСО, разделенных на 3 группы по результатам изучения их аллергологического статуса. Первую группу составили пациенты, имеющие аллергические заболевания верхних дыхательных путей и повышенный уровень общего IgE в крови. Во вторую группу вошли больные с минимальными клиническими проявлениями аллергических заболеваний (дерматит) и нормальным уровнем общего IgE в крови. В третью группу были включены больные без аллергических проявлений.

В обеих группах с клиническими проявлениями аллергической патологии определена более высокая доля случаев выявления IL-4 в экссудате барабанной полости, чем в группе без аллергических проявлений. Наименьшая доля случаев определения IFN- γ зарегистрирована в группе с минимальными проявлениями аллергии, в группах больных с заболеваниями ВДП и высоким IgE и больных без аллергических проявлений этот показатель больше.

Основные эффекты IL-4 заключаются в увеличении числа эозинофилов и тучных клеток и усилении гуморального иммунного ответа, опосредованного Th-2-клетками. Нарушение баланса IL-4 и IFN- γ в полости среднего уха, выявленное впервые у больных ЭСО с признаками аллергизации, является свидетельством аллергического компонента в хроническом воспалении слизистой оболочки барабанной полости.

IL-4 обнаружен также и в смывах из полости среднего уха у больных ЭСО, не имеющих клинических и лабораторных аллергических проявлений. Вместе с тем, именно в этой группе обнаружена самая высокая выявляемость IFN- γ , обеспечивающего необходимый в норме баланс. Кроме того, продукция IL-4 может быть выражением наследственной предрасположенности к аллергии, которая в дальнейшем может обусловить повышение продукции IgE и формирование генерализованной гиперчувствительности [Смирнова Г.И., 2006; Leung D.Y., 2013].

Всем пациентам была выполнена аденотомия с тимпанопункцией или миринготомией. Анализ отдаленных результатов оперативного лечения показал, что спустя 6 месяцев стойкая нормализация слуховой и тубарной функции выявлена у 95,83% пациентов с отсутствием маркеров латентных инфекций, а в группе с наличием маркеров латентных инфекций этот показатель составил 70%.

Результаты настоящей работы доказывают, что обследование детей с ЭСО требует включения определения маркеров латентных инфекций для выбора антимикробной терапии и более внимательного проведения контрольных осмотров в послеоперационном периоде.

Для выяснения воздействия операционной травмы и герперсвирусных и

стрептококковой инфекций на свертывающую систему крови выполнено клиническое и лабораторное обследование больных с верифицированными диагнозами «аденоидит» и/или «хронический тонзиллит», которые были условно обобщены термином «хроническая патология лимфоэпителиального глоточного кольца» (ХПЛГК).

До выполнения оперативного вмешательства больным ХПЛГК был проведен комплекс исследований показателей системы гемостаза, в результате которого у 13% пациентов было обнаружено угнетение агрегации тромбоцитов. Эти больные были отстранены от оперативного лечения.

Различные некритичные отклонения были выявлены у половины всех обследованных больных (повышение АЧТВ до 40 с, пониженное значение % протромбина по Квику, повышенный уровень фибриногена и пониженные и повышенные уровни тромбоцитов).

Выполнение оперативных вмешательств на глоточной и небных миндалинах сопровождалось операционными кровотечениями в 11,7% случаев. У большинства пациентов, у которых не было операционных кровотечений, оперативное вмешательство вызвало изменения адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов. В группе пациентов с операционными кровотечениями изменения агрегации тромбоцитов наблюдались чаще. При этом у подавляющего большинства зарегистрировано угнетение агрегации тромбоцитов. Обращает на себя внимание и более высокая встречаемость операционных кровотечений у больных, имевших отклонения показателей свертывающей системы крови при предоперационном обследовании.

Через 1 месяц после выполнения хирургического лечения результаты контрольного исследования показали полное восстановление агрегационной функции тромбоцитов у всех больных, у которых имелись операционные кровотечения.

При оперативном вмешательстве у всех больных было также отмечено статистически значимое уменьшение степени агрегации тромбоцитов, при этом наименьшее значение выявлено в группе с кровотечениями, и оно было

статистически значимо ниже чем у больных без кровотечений. Через 1 месяц после операции значение степени агрегации тромбоцитов в группе больных с кровотечениями восстановилось с некоторым превышением предоперационного уровня.

Выявленная впервые динамика степени агрегации тромбоцитов является свидетельством негативного временного влияния операционной травмы на тромбоцитарное звено системы гемостаза, которое может быть одной из причин операционных кровотечений у детей с ХПЛГК.

Во время операции у больных с кровотечениями доля случаев отклонений от нормы уровней % протромбина по Квику была статистически значимо выше, чем у больных без кровотечений. Нарушения тромбоцитарного звена гемостаза, а также внешнего и внутреннего путей плазменного гемостаза наблюдаются чаще в группе больных с операционными кровотечениями.

Публикации в специальной литературе свидетельствуют об увеличении частоты кровотечений, развивающихся во время операций на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца [Костерева И.А., 2001]. К факторам, способствующим развитию таких осложнений, помимо нарушений в свертывающей системе крови относят повышенную аллергизацию и дисбаланс иммунного статуса больных детей [Киричук В.Ф. и соавт., 2004].

Немногочисленные работы посвящены изучению патогенетических аспектов нарушений свертывающей системы крови при хронической патологии лимфоэпителиального глоточного кольца [Дюдина О.Ю., 2005]. Геморрагический синдром у детей считают одним из осложнений аденоидита. Нарушения функции тромбоцитов и эндотелия кровеносных сосудов, снижение активации факторов свертывания плазмы крови сопровождают аденоидит и тонзиллит. Метатонзиллярные заболевания при хроническом тонзиллите могут опосредовать нарушения функции печени, в том числе продукции витамин К-зависимых факторов свертывания крови.

Нестероидные противовоспалительные и антигистаминные препараты, как и некоторые антибиотики, применяемые в лечении метатонзиллярной патологии,

снижают свертывающую способность крови [Говорун М.И. и соавт., 2007]. Имеются данные об угнетении агрегационной функции тромбоцитов при применении ингаляционных общих анестетиков и ряда других лекарственных средств [O'Leary S., Vorrath J., 2005].

Персистенция герпесвирусов в лимфоидной ткани организма сопровождается структурными изменениями, влияющими на многие звенья системы иммунитета. Кроме того, ВЭБ и ЦМВ имеют высокую тропность к тканям печени и опосредуют дистрофические процессы в гепатоцитах [Ражабов А.Н. и соавт., 2012]. В собственных исследованиях впервые показано, что операционная травма на фоне персистирующей герпесвирусной инфекции у детей сопровождалась более значительными нарушениями агрегационной функции тромбоцитов и продукции плазменных факторов гемостаза. Тромбоцитопатия, обусловленная влиянием ВЭБ-, ЦМВ- и стрептококковой инфекций, проявляется подавлением агрегационной способности тромбоцитов в условиях нарушения реакции освобождения.

Хирургический метод лечения характеризуется тем, что его применение всегда сопровождается операционной травмой. Считается, что помимо основного заболевания операционная травма и анестезия играют важную роль в нарушениях гемостаза [Ефименко Н.А. и соавт., 2006]. Однако большинство публикаций посвящено нарушениям, выражающимся гиперкоагуляцией крови. Результаты настоящего исследования, напротив, впервые выявляют гипокоагуляционные нарушения в свертывающей системе крови у детей при оперативных вмешательствах на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца. В работе показано, что возникновение операционного кровотечения у детей обусловлено в значительной степени снижением функциональной (адгезивной, агрегационной, секреторной) активности тромбоцитов, которое в большей степени проявляется у больных с маркерами герпесвирусных и стрептококковой инфекций.

Установлено, что при выполнении операций на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца персистенцию герпесвирусных и

стрептококковой инфекций следует рассматривать как патогенетический фактор развития операционных кровотечений. Повышенный уровень плазменного фибронектина у детей с маркерами этих инфекций, возможно, является компенсаторной реакцией на скрытые нарушения системы гемостаза.

Таким образом, оценка диагностической значимости традиционных лабораторных исследований, проведенных взрослым больным хроническим тонзиллитом, показала отсутствие специфических показателей для данной патологии и невозможность отличать как больных хроническим тонзиллитом от здоровых, так и компенсированную и декомпенсированную формы заболевания. Метаболомный анализ выдыхаемого воздуха с помощью анализатора «электронный нос» позволил выявить характерные спектры летучих метаболитов при компенсированной и декомпенсированной формах хронического тонзиллита в целом и статистически значимые различия между группами с компенсированной и декомпенсированной формой заболевания.

Применение исследования морфологических характеристик препаратов биологических жидкостей по методу С.Н. Шатохиной – в совокупности с предложенным нами оригинальным запатентованным способом взятия биологического материала из слуховой трубы позволило статистически значимо отразить патофизиологические нарушения обмена холестерина в барабанной полости и повысить чувствительность лабораторной диагностики холестеатомы среднего уха у больных ХГСО.

Результаты определения традиционных показателей фагоцитарного и гуморального звеньев врожденного иммунитета у взрослых больных бактериальным наружным диффузным отитом позволили выявить у больных наличие вторичного транзиторного иммунодефицита. Изучение участия новой группы факторов врожденного иммунитета – антимикробных белков и пептидов – в патогенезе БНДО позволило определить их различную динамику при различной клинической картине заболевания и прогностическую значимость.

Исследование значения персистирующих герпесвирусных, микоплазменной и хламидийной инфекций при хроническом аденоидите у детей позволило продемонстрировать их негативное влияние как на клиническое течение заболевания, так и на развитие его осложнения – экссудативного среднего отита. На основании применения статистических методов нами предложены диагностические подходы для прогнозирования неблагоприятного течения послеоперационного периода, определения вида этиотропной терапии и достижения более полной реконвалесценции.

Изучение эффективности коагулометрических тестов, применяемых в настоящее время для скрининговой предоперационной диагностики нарушений системы гемостаза у детей с хронической патологией ЛГК, продемонстрировало их недостаточность для оценки риска развития операционного кровотечения при хирургических вмешательствах на миндалинах ЛГК. Применение дополнительного исследования адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов показало повреждающее действие операционной травмы на тромбоцитарное звено гемостаза, которое усугубляется при наличии персистирующей ВЭБ-, цитомегаловирусной и стрептококковой инфекций.

Плазменный фибронектин известен как важный многофункциональный компонент системы гемостаза. Однако диагностическое его значение для оценки риска возникновения операционных кровотечений пока не установлено. Оригинальное исследование уровней плазменного фибронектина у детей с хронической патологией ЛГК показало его повышение у больных с персистирующими латентными инфекциями.

Подводя итог, можно заключить, что изложенные результаты настоящего диссертационного исследования позволили выявить значительные, ранее неизвестные патогенетические механизмы хронических и острых воспалительных заболеваний ЛОР-органов. Выявленные патофизиологические процессы обуславливают тяжесть клинического течения болезней у взрослых и детей и развитие осложнений, в том числе после выполнения хирургического лечения.

ВЫВОДЫ

1. Воспалительный процесс в небных миндалинах при хроническом тонзиллите у взрослых больных вне обострения не влияет на показатели клинических анализов крови и мочи, иммунологической функции небных миндалин и на уровень в крови С-реактивного белка, антистрептолизина-О, ревматоидного фактора.
2. Метаболомное исследование выдыхаемого воздуха с помощью анализатора «электронный нос» позволяет выявлять характерный спектр летучих метаболитов, обусловленный хроническим воспалением в небных миндалинах, и дифференцировать компенсированную и декомпенсированную формы хронического тонзиллита у взрослых, а также оценивать результаты лечения больных.
3. Развитие холестеатомы при хроническом гнойном среднем отите у взрослых характеризуется снижением содержания в регионарных внешних секретах холестерина и сопровождается формированием биологически инертных масс, расположенных внеклеточно в полости среднего уха. Анализ морфологической картины твердой фазы отделяемого из слуховой трубы характеризуется большей чувствительностью при выявлении холестеатомы среднего уха по сравнению с другими методами.
4. Нарушения врожденного иммунитета у больных бактериальным наружным диффузным отитом проявляются угнетением фагоцитарной активности нейтрофилов крови, отсутствием повышения продукции острофазового белка LBP, катионного белка кателицидина LL-37 и провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α .
5. Исследования системы иммунитета, включающие определение антимикробных белков, острофазового белка LBP и провоспалительных цитокинов, в динамике лечения взрослых больных бактериальным наружным диффузным отитом позволяют объективизировать заключение о выздоровлении и оценить эффективность различных видов лечения.

6. При экссудативном среднем отите у детей с маркерами ВЭБ-, ЦМВ-, микоплазменной и хламидофилезной инфекций более выражен лимфопролиферативный синдром, наблюдается наиболее неблагоприятное течение патологического процесса с проявлением аллергического воспаления, что сопровождается увеличением продукции провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6 и дисбалансом продукции IL-4 и IFN- γ .
7. Проведение специфической этиотропной терапии антимикробными препаратами с учетом выявленных латентных инфекций позволяет улучшить результаты реконвалесценции детей с экссудативным средним отитом в послеоперационном периоде, что свидетельствует о необходимости включения определения маркеров ВЭБ-, ЦМВ-, микоплазменной и хламидофилезной инфекций в схему предоперационного обследования.
8. Значения показателей системы гемостаза в пределах референсных диапазонов, полученные во время предоперационных скрининговых лабораторных исследований у детей с хронической патологией лимфоэпителиального глоточного кольца, не являются гарантией отсутствия операционного кровотечения даже при полном соблюдении технологических правил хирургического вмешательства.
9. Наличие у детей с хронической патологией лимфоэпителиального глоточного кольца в крови маркеров ВЭБ- и ЦМВ-инфекций является фактором риска операционных кровотечений.
10. Операционная травма при оперативных вмешательствах на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца у детей опосредует нарушение функциональной активности тромбоцитов и снижение плазменного фибронектина. Сниженная агрегационная способность тромбоцитов в сочетании с наличием ВЭБ- и ЦМВ-инфекций статистически значимо повышает риск операционных кровотечений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для контроля эффективности консервативного лечения больных хроническим тонзиллитом целесообразно использовать метод исследования газового состава выдыхаемого воздуха с помощью анализатора «электронный нос», а также применять этот метод для дифференциальной диагностики форм заболевания. Экспрессный метаболомный анализ выдыхаемого воздуха может быть применен при диспансеризации населения для выявления хронического тонзиллита.
2. Морфологический анализ отделяемого из среднего уха (метод клиновидной дегидратации) следует применять для диагностики холестеатомного процесса при обследовании больных хроническим гнойным средним отитом.
3. Биохимическое исследование липидов в отделяемом из среднего уха может быть использовано в качестве дополнительного метода диагностики холестеатомы при обследовании больных хроническим гнойным средним отитом.
4. Лабораторные исследования фагоцитарной активности нейтрофилов крови, содержания общих иммуноглобулинов и острофазового белка LBP в крови необходимо проводить для оценки клинического течения и прогноза бактериального наружного диффузного отита.
5. Определение в крови маркеров герпесвирусных (ВЭБ и ЦМВ), микоплазменной и хламидофильной инфекций у детей патологией лимфоэпителиального глоточного кольца, осложненной экссудативным средним отитом, рекомендуется для выбора специфической этиотропной терапии в послеоперационном ведении больных.
6. Следует включать в предоперационное обследование детей с хронической патологией лимфоэпителиального глоточного кольца исследование в крови маркеров герпесвирусных (ВЭБ и ЦМВ) инфекций и исследование агрегационной функции тромбоцитов для определения риска возникновения операционных кровотечений.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ – аденозиндифосфат

АСЛ-О – антистрептолизин О

АЧТВ/АПТВ – активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время

БГСА – бета-гемолитический стрептококк группы А

БНДО – бактериальный наружный диффузный отит

ВДП – верхние дыхательные пути

ДК – длительность кровотечения

ЛГК – лимфоэпителиальное глоточное кольцо

ПВ – протромбиновое время

РМ – резидентные микроорганизмы

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРБ – С-реактивный белок

ТВ – тромбиновое время

УПМ – условно-патогенные микроорганизмы

ХГСО – хронический гнойный средний отит

ХПЛГК – хроническая патология лимфоэпителиального глоточного кольца

ХТ – хронический тонзиллит

ЭСО – экссудативный средний отит

ВРІ – белок, повышающий проницаемость клеточной мембраны

hBD-2 – β -дефенсин

HNP 1-3 – α -дефенсины

IgA – иммуноглобулин А

IgE – иммуноглобулин Е

IgG – иммуноглобулин G

IgM – иммуноглобулин М

IFN- γ – интерферон-гамма

IL-1 β – интерлейкин-1 β

IL-1ra – антагонист рецептора интерлейкина-1

IL-4 – интерлейкин 4

IL-6 – интерлейкин 6

LBP – белок, связывающий липополисахарид

LL-37 – кателицидин

MCP – хемоаттрактантный белок моноцитов

TLRs – толл-подобные рецепторы

TNF- α – фактор некроза опухолей

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азаматова, Э.К. Роль персистентных свойств микроорганизмов при хроническом тонзиллите у детей / Э.К. Азаматова, З.Ф. Хараева, Г.С. Мальцева // Рос. оторинолар. – 2011. – № 3(52) – С. 3–6.
2. Анализ выдыхаемого воздуха: физические методы, приборы и медицинская диагностика / В.Л. Вакс, Е.Г. Домрачева, Е.А. Собакинская [и др.] // Успехи физических наук. – 2014. – Т. 184, № 7. – С. 739–758.
3. Анализ противомикробных пептидов у детей с тяжело протекающими и рецидивирующими острыми паратонзиллитами / Р.И. Ланда, М.Р. Богомильский, Л.В. Ганковская [и др.] // Вестн. оторинолар. – 2011. – №1. – С. 74–76.
4. Антибактериальные и противовирусные функции основных белков клетки и перспективы практического их использования / И.П. Ашмарин, С. М. Ждан–Пушкина, В.Н. Кокряков [и др.] // Изв. АНССР. Серия Биология. – 1972. – № 4. – С. 502–508.
5. Антимикробные пептиды в патогенезе инфекционных осложнений в акушерстве и гинекологии / О.Н. Ивашова, О.П. Лебедева, С. П. Пахомов [и др.] // Журн. акушерства и женских бол. – 2014. – Т. 63, № 5. – С. 73–81.
6. Антимикробные пептиды и белки в диагностике синдрома мальабсорбции у детей / Т.А. Шуматова, Е.С. Зернова, Л.А. Григорян [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – С. 268.
7. Ардатская, М.Д. Летучие жирные кислоты и их диагностическое и прогностическое значение в гастроэнтерологической клинике / М.Д. Ардатская, О.Н. Минушкин // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2000. – № 5. – С. 63–70.
8. Арефьева, Н.А. Тонзиллярная патология. Современное состояние проблемы / Н.А. Арефьева // Вестн. оторинолар. – 2012. – № 6. – С. 10–13.
9. Бабин, В.Н. Молекулярные аспекты симбиоза в системе хозяин–микрофлора / В.Н. Бабин, О.Н. Минушкин // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1998. – № 6. – С. 76–82.

10. Бактериальный эндотоксикоз / Б.З. Шенкман, М.М. Андрейчин, С.А. Степанов [и др.]. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1996. – 240 с.
11. Балябина, М.Д. Методы определения С-реактивного белка / М.Д. Балябина, В.В. Слепышева, А.В. Козлов // Terra Medica. – 2007. – №3 (15) – С. 23–25.
12. Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. – М.: Ньюдиамед, 2001. – 296 с.
13. Барычева, Л.Ю. Показатели адаптивного иммунитета у детей с инфекционным мононуклеозом, обусловленным вирусом Эпштейна–Барра / Л.Ю. Барычева, М.В. Голубева, А.В. Волкова // Кубанский науч. мед. вестн. – 2012. – № 2. – С. 30–33.
14. Белобородова, Н.В. Гомеостаз малых молекул микробного происхождения и его роль во взаимоотношениях микроорганизмов с хозяином / Н.В. Белобородова, Г.А. Осипов // Вестн. РАМН. –1999. – Т.16, №7. – С. 25–31.
15. Белобородова, Н.В. Метаболиты анаэробных бактерий (летучие жирные кислоты) и реактивность макроорганизма / Н.В. Белобородова, С. М. Белобородов // Антибиотики и химиотерапия. – 2000. – №2. – С. 28–36.
16. Белоцкий, С.М. Воспаление и иммунный ответ в таблицах и схемах / С.М. Белоцкий, Р.Р. Авталион. – М.: Гончарь, 2006. – 64 с.
17. Бережная, Н.М. Физиология TOLL-подобных рецепторов – регуляторов врожденного и приобретенного иммунитета / Н.М. Бережная, Р.И. Сепиашвили // Аллергол. и иммунол. – 2015. – Т. 16, № 1. – С. 165–168.
18. Биохимия человека: в 2-х т. / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес [и др.]. – Т. 1. – Пер. с англ.: – М.: Мир, 1993. – 384 с.
19. Бобошко, М.Ю. Слуховая труба / М.Ю. Бобошко, А.И. Лопотко // СПб.: СпецЛит, 2003. – С. 13–24; 92–98.
20. Богоманова, Д.Н. Иммунокоррекция при отомикозах / Д.Н. Богоманова, Л.Ф. Азнабаева. // Мат. Всерос. симп.: «Проблемы иммунологии в оториноларингологии». – СПб.,1994. – С. 98–99.
21. Боковой, А.Г. Герпесвирусные инфекции у детей / А.Г. Боковой. – М.: МАКС Пресс, 2008. –140 с.

22. Болезни уха, горла и носа: руководство для врачей / В.Ф. Ундриц, К.Л. Хилов, Н.Н. Лозанов [и др.]; под ред. Д.А. Пигулевского. – 2-е изд. – Л.: Медицина, 1969. – 573 с.
23. Болезни уха, горла, носа в детском возрасте: нац. руководство / под ред. М. Р. Богомильского, В.Р. Чистяковой. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2008. – 736 с.
24. Борзов, Е.В. Факторы риска развития аденоидных вегетаций у детей / Е.В. Борзов // Вестн. оторинолар. – 2003. – №2. – С. 22–23.
25. Боровиков, В.П. «STATISTICA». Искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов / В.П. Боровиков. – 2-ое изд. – СПб.: «Питер», 2003. – 688 с.
26. Бочкарев, Е.Г. Лабораторная диагностика хламидийной инфекции / Е.Г. Бочкарёв // Иммунопатол., аллергол., инфектол. – 2000. – № 4. – С. 65–72.
27. Бояджан, Г.Г. Холестеатома среднего уха: вопросы лучевой диагностики / Г.Г. Бояджан // Новости оторинолар. и логопатол. – 1999. – № 4 (20). – С. 6–8.
28. Будихина, А.С. Дефензины – мультифункциональные катионные пептиды человека / А.С. Будихина, Б.В. Пинегин // Иммунопатол. аллергол. инфектол. – 2008. – №2. – С. 31–40.
29. Бурместер, Г.-Р. Наглядная иммунология / Г.-Р. Бурместер, А. Пецутто. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 320 с.
30. Бурмистрова, Т.В. Современные этиопатогенетические аспекты экссудативного среднего отита / Т.В. Бурмистрова // Рос. оторинолар. – 2004. – №1 (8). – С. 25–28.
31. Вавилова Т.В. Гемостазиология в клинической практике (пособие для врачей) / Т.В. Вавилова. - СПб.: Издательство СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, 2005. – 92 с.
32. Васильев, А.Г. Иммунология и иммунопатология / А.Г. Васильев, Л.П. Чурилов. – СПб.: СОТИС, 2006. – 180 с.
33. Вельков, В.В. С-реактивный белок в лабораторной диагностике острых воспалений и в оценке рисков сосудистых патологий / В.В. Вельков // Клинико–лабораторный консилиум. – 2008. – №2 (21). – С. 37–48.
34. Вершигора А.Е. Иммунобиология небных миндалин / А.Е. Вершигора. –

Киев: Здоровья, 1978. –148 с.

35. Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) в России: инфицированность населения и анализ вариантов гена LMP1 у больных ВЭБ–ассоциированными патологиями и здоровых лиц / Е.В. Гончарова, Н.Б. Сенюта, К.В. Смирнова [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2015. – Т. 60, № 2. – С. 11–17.
36. Вирусологические аспекты формирования экссудативного среднего отита у детей / Н.В. Щербик, А.В. Староха, К.И. Чуйкова [и др.] // Мат. XVIII съезда оториноларингологов России. – СПб., 2011. – Т.1. – С. 430–433.
37. Возможности применения метода кристаллографии слезы при патологии слезоотводящей системы / В.Г. Белоглазов, Е.Л. Атькова, А.А. Фёдоров [и др.] // Вестн. офтальмологии. – 2003. – № 4. – С. 49–51.
38. Возможность использования количественного определения бактерицидного / индуцирующего протеина ВРІ в слюне для контроля эффективности лечения воспалительных процессов полости рта / Ю.С. Шишкова, О.И. Филимонова, А.С. Емелина [и др.] // Современные исследования медико–биологических наук: совершенствование диагностики, разработка средств профилактики и терапии болезней: Сб. мат. междунар. науч. конф. (Киров, 26–28 июня 2013 г.) / под ред. Л.В. Натрус. – Киров, 2013. – С. 147–153.
39. Возрастные количественные функциональные показатели иммунной системы у детей с хроническим аденоидитом в зависимости от ассоциации биологических видов микроорганизмов / Н.В. Терскова, С.Г. Вахрушев, А.С. Смбатян [и др.] // Рос. оторинолар. – 2012. – № 3. – С. 126–139.
40. Воячек, В.И. Основы оториноларингологии / В.И. Воячек. – Л.: Медгиз, 1953. – 348 с.
41. Выявление больных на ранних стадиях мочекаменной болезни и оценка эффективности их лечения с помощью Литос–системы / Л.А. Дасаева, С.Н. Шатохина, Е.М. Шилов [и др.] // Клинич. лаб. диагностика. – 2003. – № 9. – С. 40–41.
42. Гаджимирзаев, Г.А. О некоторых положениях проблемы хронического тонзиллита / Г.А. Гаджимирзаев // Вестн. оторинолар. – 2010. – № 6. – С. 34–35.

43. Газоанализатор "Helico Sense" как новое средство для диагностики хеликобактерной инфекции / А.В. Козлов, Ю.С. Евстратова, В.П. Новикова [и др.] // Мед. техника. – 2006. – № 3. – С. 44–46.
44. Галанович, В.Я. Основы диагностики, лечения и профилактики ангин и хронического тонзиллита / В.Я. Галанович // Здоровоохр. Беларуси. – 1980. – №5. – С. 14–17.
45. Гапанович, В.Я. Оториноларингологический атлас / В.Я. Гапанович, В.М. Александров. – Минск: Вышэйш. шк., 1989. – 238 с.
46. Гаращенко, Т.И. Затрудненное носовое дыхание у детей: диагностика и принципы лечения / Т.И. Гаращенко // Педиатрия. – 2008. – №5. – С. 68–75.
47. Гетте, В.А. Влияние аутогемотерапии на показатели естественной резистентности у больных с фурункулами носа и уха / В.А. Гетте, В.В. Бараненко // Журн. ушн., нос. и горл. бол. – 1982. – №4. – С. 60.
48. Говорун, М.И. Объем кровопотери во время тонзиллэктомии в зависимости от форм тонзиллита / М.И. Говорун, А.А. Горохов, П.А. Паневин // Рос. оторинолар. – 2007. – №3(28). – С. 13–15.
49. Горбатенко, Н.Г. Семейная легионеллезная внебольничная пневмония. Эмпирическая диагностика и лечение в условиях гарнизонного военного госпиталя / Н.Г. Горбатенко, В.Г. Геращенко // Здоровье. Мед. экология. Наука. – 2016. – № 1 (64). – С. 47–52.
50. Горбич, О.А. Атипичная пневмония – значимая проблема детского возраста / О.А. Горбич // Мед. журн. – 2016. – № 3 (57). – С. 57–61.
51. Гребенщикова, Л.А. Иммунокоррекция в комплексном лечении хронических риносинуситов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук/ Л.А. Гребенщикова. – Санкт-Петербург, 1994. – 27 с.
52. Гребенщикова, Л.А. Применение чистотела в комплексном лечении больных хроническим гнойным риносинуситом: метод. рек. / Л.А. Гребенщикова, К.В. Яременко. – СПб., 1994. – 8 с.
53. Гринчук, О.Н. Сравнительная оценка эффективности консервативного и хирургического методов лечения больных хроническим тонзиллитом

- стрептококковой этиологии / О.Н. Гринчук // Российская оториноларингология. – 2012. – № 1. – С. 56–60.
54. Данилов, Л.А. Иммунологическая характеристика детей с хроническим тонзиллитом / Л.А. Данилов // Оторинолар. Восточная Европа. – 2013. – № 3 (12). – С. 51–56.
55. Дементьева, И.И. Патология системы гемостаза / И.И. Дементьева, М.А. Чарная, Ю.А. Морозов. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2013. – 283 с.
56. Дмитриев, Н.С. Компьютерная томография височной кости в предоперационном обследовании больных с различной патологией уха / Н.С. Дмитриев, С. Я. Косяков, В.И. Федосеев // Оториноларингология на рубеже тысячелетия: мат. XVI съезда Оториноларингологов Р.Ф. – СПб.: РИА–АМИ, 2001. – С. 68–73.
57. Дмитриев, Н.С. Экссудативный средний отит у детей: Метод. рек. / Н.С. Дмитриев, Н.Д. Милешина, Л.И. Колесова. – М., 1996. – 25 с.
58. Долгих, Т.И. Лабораторные биомаркеры инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр / Т.И. Долгих, Т.В. Кадцына, Е.Ю. Минакова // Справочник заведующего КДЛ. – 2013. – № 2. – С. 7–12.
59. Долгих, Т.И. Этиологическая структура и клинико–иммунологическая характеристика лимфаденопатий инфекционного генеза в Омской области / Т.И. Долгих, Э.Ф. Зайкова, Ф.В. Носкова // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2008. – № 1. – С. 18–22.
60. Долгов, В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В.В. Долгов, П.В. Свирин. – М.; Тверь: «Триада», 2005. – 227 с.
61. Долгушин, И.И. Нейтрофилы и гомеостаз / И.И. Долгушин, О.В. Бухарин. – Екатеринбург: УрО РАН, 2001. – 278 с.
62. Долгушин, И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов / И.И. Долгушин, Ю.С. Андреева, А. Ю. Савочкина. – М.: Изд–во РАМН, 2009. – 208 с.

63. Донозологическая диагностика нарушений иммунной системы / Р.В. Петров, Р. М. Хаитов, Б.В. Пинегин [и др.] // Иммунология. – 1995. – № 2. – С. 4–5.
64. Достижения в изучении антибиотических пептидов на кафедре биохимии санкт-петербургского государственного университета / В.Н. Кокряков, Л.Е. Леонова, М.Н. Берлов [и др.] // Вестн. СПб. ун – та. Серия 3. Биология. – 2009. – № 1. – С. 24–30.
65. Дроздова, М.В. Клинико–лабораторный мониторинг хронической Эпштейна–Барра вирусной инфекции у детей с лимфопролиферативным синдромом / М.В. Дроздова, Е.В. Тырнова // Рос. оторинолар. – 2008. – №6(37). – С. 50–55.
66. Дроздова, М.В. Лимфопролиферативный синдром у детей с заболеваниями верхних дыхательных путей (этиология, патогенез, клиническая и лабораторная диагностика): автореф. дис. ... д – ра мед. наук / М.В. Дроздова. – СПб., 2010. – 48 с.
67. Дроздова, М.В. Принципы рациональной диагностики и терапии нарушений системы гемостаза при ЛОР–операциях у детей / М.В. Дроздова, Е.В. Тырнова // Рос. оторинолар. – Приложение № 1. – 2009. – С. 58–66.
68. Дроздова, М.В. Экссудативный средний отит у детей с хроническим лимфопролиферативным синдромом / М.В. Дроздова, Ю.С. Преображенская, Е.В. Тырнова // Рос. оторинолар. – 2011. – № 4(53). – С. 62–68.
69. Дроздова, М.В. Этиологическая роль вируса Эпштейна–Барр в развитии острого лимфопролиферативного синдрома у детей / М.В. Дроздова, Е.В. Тырнова // Рос. оторинолар. – 2008. – № 6(37). – С. 44–49.
70. Дуткевич, И.Г. Практическое руководство по клинической гемостазиологии (физиология системы гемостаза, геморрагические диатезы, тромбофилии) / И.Г. Дуткевич, Е.Н. Сухомлина, Е. А. Селиванов. – СПб.: Фолиант, 2014. – 270 с.
71. Дюдина, О.Ю. Функциональная активность тромбоцитов в группе контроля детей старшего школьного возраста и больных хроническим тонзиллитом и ангиной : автореф.дис. ... канд.мед.наук / О.Ю. Дюдина. – Саратов, 2005. – 12 с.

72. Егоров, Л.В. Дифференцированный подход к хирургическому лечению холестеатомы среднего уха у детей / Л.В. Егоров, Г.В. Власова, А.Н. Крылов // Рос. оторинолар. – 2004. – №2 (9). – С. 50–53.
73. Ершов, Ф.И. Цитомегаловирусная инфекция (современные данные об эпидемиологии, клинике, диагностике и терапии) / Ф.И. Ершов, Н.В. Касьянова // Инфекции и антимикробная терапия. – 2002. – Т.4 (4). – С. 116–119.
74. Ефименко, Н. А. Руководство по общей хирургии: учеб. пособие. / Н.А. Ефименко, В.Е. Розанов, П.Н.Зубарев. – М.: Медицина, 2006. – 752 с.
75. Железникова, Г.Ф. Иммуноглобулин Е при бактериальных инфекциях человека / Г.Ф. Железникова // Рос. иммунол. журн. – 2015. – Т. 9, № 1 (18). – С. 27–40.
76. Железникова, Г.Ф. Иммуноглобулин Е: биологическая роль при инфекционных заболеваниях / Г.Ф. Железникова // Мед. иммунология. – 2002. – Т. 4, № 4–5. – С. 515–534.
77. Желтова, А.Н. Клинико–лабораторная оценка эндотоксикоза у больных хроническим тонзиллитом: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.Н. Желтова. – М., 2011. – 23 с.
78. Заблоцкая, С. Г. Лабораторная диагностика инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр / С. Г. Заблоцкая, Н.М. Шевченко, И.А. Ольховский // Бюл. лабораторной службы. – 2002. – №10. – С. 12–18.
79. Заболотный, Д.И. Вопросы иммунодиагностики хронического тонзиллита / Д.И. Заболотный, О.Ф. Мельников // Вестн. оторинолар. –1999. – №5. – С. 17–20.
80. Заболотный, Д.И. Клиническая иммунология в отоларингологии: достижения и перспективы / Д.И. Заболотный, О.Ф. Мельников // Мат. 10-го съезда отоларингологов Украины. – Судак, 2010. – С. 85.
81. Заболотских, И.Б. Диагностика и коррекция расстройств системы гемостаза : руководство для врачей / И.Б. Заболотских, С.В. Синьков, С.А. Шапошников. – М.: Практ. мед., 2008. – 335 с.
82. Завадский, А.В. Холестеатома среднего уха, положение сигмовидного синуса и пневматизация височной кости / А.В. Завадский // Журн. ушн., нос. и

горл. бол. – 2002. – № 6. – С. 14–21.

83. Заварзин, Б.А. Кандибиотик в лечении острых средних и наружных отитов / Б.А. Заварзин, И.А. Аникин // Рос. оторинолар. – 2011. – № 2 (51). – С. 31–36.

84. Завгородняя, Е.Г. Цитокины и их место в диагностике и лечении ряда заболеваний ЛОР–органов / Е.Г. Завгородняя // Вестн. оторинолар. – 2008. – №3. – С. 74–76.

85. Загоруева, Л.Л. Изучение динамики некоторых биохимических и морфологических показателей заживления трепанационных полостей среднего уха с применением гомологичной костной РНК: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Л.Л. Загоруева. - Киев, 1990. - 15 с.

86. Значение вирусного фактора в этиопатогенезе и при выборе тактики лечения экссудативного среднего отита у детей / Л.Н. Хулугурова, Н.В. Щербик, К.И. Чуйкова [и др.] // Бюл. сиб. мед. – 2011. – № 6. – С. 120–125.

87. Значение персистенции цитомегаловирусной инфекции в формировании группы часто болеющих детей / И.А. Сотников, Н.Ю. Егорова, Е.А. Вальтц [и др.] // Детские инфекции. – 2015. – Т. 14, № 4. – С. 13–16.

88. Золотова, Т.В. Иммунный компонент в патогенезе экссудативного среднего отита в детской возрастной группе / Т.В. Золотова, А.Г. Манукян // Рос. оторинолар. – 2016. – № 3 (82). – С. 174.

89. Иванец, И.В. Клинико–морфологические особенности хронического гнойного среднего отита с холестеатомой: автореф. дис. ... канд. мед. наук / И.В. Иванец. – М., 1992. – 25 с.

90. Извин, А.И. Микробиоценоз носоглотки у детей при аденоидных вегетациях, ассоциированных с экссудативным средним отитом / А.И. Извин, Н.Е. Кузнецова // Рос. оторинолар. – 2011. – № 4. – С. 86.

91. Изменение показателей врожденного иммунитета при очаговой склеродермии / Л.В. Ганковская, О.А. Свитич, И.В. Хамаганова [и др.] // Вестн. Рос. гос. мед. ун – та. – 2015. – № 4. – С. 20–23.

92. Изотипический спектр антител к дифтерийному токсину при четырех уровнях (типах) иммунного ответа у ранее вакцинированных детей, переносящих

- дифтерию / Г.Ф. Железникова, А.В. Мельникова, Н.Е. Монахова [и др.] // Иммунология. – 2000. – Т. 21, № 6. – С. 29–33.
93. Иммунологические аспекты локальной иммуномодуляции мукозальной вакциной системного действия у больных хроническим тонзиллитом и после тонзиллэктомии / О.Ф. Мельников, Д.И. Заболотный, О.И. Тынитовская [и др.] // Современная педиатрия. – 2015. – № 4 (68). – С. 73.
94. Иммунология / Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д.Б. Рот [и др.]. – Пер. с англ. – М.: Логосфера, 2007. – 568 с.
95. Исаков, В.А. Герпесвирусная инфекция: Рекомендации для врачей / В.А. Исаков, С. Б. Рыбалкин, М.Г. Романцов. – СПб., 2006. – 95 с.
96. Использование иммуномодулирующей терапии в лечении пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с вирус Эпштейна–Барр инфекцией / Е.В. Маркелова, А.С. Красницкая, Н.А. Боровская [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 5–2. – С. 324–327.
97. Казеко, Л.А. Возможности диагностики заболеваний периодонта с использованием противомикробных пептидов слюны и десневой жидкости / Л.А. Казеко // Современная стоматология. – 2016. – № 1 (62). – С. 11–16.
98. Калинина, Н.М. Особенности параметров клеточного звена иммунитета у детей дошкольного и школьного возраста, больных с инфекционным мононуклеозом Эпштейна–Барр вирусной этиологии, в разгар болезни / Н.М. Калинина, В.Н. Тимченко, С.Л. Баннова // Мед. –биол. и соц. –психол. проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2010. – № 3. – С. 54–57.
99. Калинина, Н.М. Современные представления об иммунопатогенезе инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр / Н.М. Калинина, Л.Б. Дрыгина, Т.В. Горейко // Инфекция и иммунитет. – 2011. – Т. 1, № 2. – С. 121–130.
100. Камаев, М.Ф. Инфицированная рана и ее лечение / М.Ф. Камаев. – М.: Медицина, 1970. – 159 с.
101. Камышников, В.С. Клинико–биохимическая лабораторная диагностика: справочник / В.С. Камышников. В 2 т. Т.2. – 2-е изд. – Минск: Интерпрессервис, 2003. – 463 с.

102. Карабаева, Х.Э. Некоторые показатели иммунитета у детей с гнойно-воспалительными заболеваниями уха и возможности коррекции их нарушений / Х.Э. Карабаева // Журн. ушн., нос. и горл. бол. – 1997. – №4. – С. 56–62.
103. Караулов, А.В. Иммунология, микробиология и иммунопатология кожи / А.В. Караулов, С. А. Быков, А.С. Быков. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 328 с.
104. Катионные противомикробные пептиды как молекулярные факторы иммунитета: мультифункциональность / В.Н. Кокряков, Л.В. Ковальчук, Г.М. Алешина [и др.] // Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунол. – 2006. – №2. – С. 98–105.
105. Кетлинский, С. А. Первичные иммунодефициты / С.А. Кетлинский, В.С. Смирнов. – СПб., 2000. – 91 с.
106. Кетлинский, С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб.: Фолиант, 2008. – 552 с.
107. Кетлинский, С.А. Эндогенные иммуномодуляторы / С. А. Кетлинский, А.С. Симбирцев, А.А. Воробьев. – СПб.: Гиппократ, 1992. – 61 с.
108. Киричук, В.Ф. Изменения функциональной активности тромбоцитов при хроническом тонзиллите и ангине у детей / В.Ф. Киричук, О.В. Мареев, О.Ю. Дюдина // Вестн. оторинолар. – 2004. – №5. – С. 13–16.
109. Кишкун, А.А. Иммунологические исследования и методы диагностики инфекционных заболеваний в клинической практике / А.А. Кишкун. – М.: ООО «РИА МИА», 2009. – 712 с.
110. Кишкун, А.А. Теоретические и прикладные аспекты разработки медицинских технологий повышения качества и эффективности клинической лабораторной диагностики: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.А. Кишкун. – М., 2003. – 51 с.
111. Клинико-лабораторная характеристика инфекционного мононуклеоза, обусловленного вирусом Эпштейна–Барр / Р.А. Гилева, З.А. Хохлова, Ю.С. Чечет [и др.] // Казан. мед. журн. – 2014. – Т. 95, № 5. – С. 722–725.
112. Клинико-лабораторные особенности течения локализованной формы

- дифтерии ротоглотки на фоне хронического тонзиллита / В.П. Шпотин, А.И. Проскурин, Х.М. Галимзянов [и др.] // Вестн. оторинолар. – 2001. – №2. –С. 28–31.
113. Клиническая и лабораторная диагностика наиболее часто встречающихся нарушений гемостаза: метод. рук. / А.А. Козлов, А.Л. Берковский, А.Л. Мелкумян [и др.]. – М.: Принт, 2013. – 44 с.
114. Клиническая лабораторная диагностика как часть клинической медицины / Ю.В. Эмануэль, А.Г. Кочетов, Т.В. Вавилова [и др.] // Клинич. лаб. диагностика. – 2015. – №7. – С. 63–65.
115. Клинические рекомендации по диагностике и лечению аллергического ринита: пособие для врачей / под ред. А.С. Лопатина. – СПб.: ООО «РИА–АМИ», 2003. – 48 с.
116. Клинические формы хронической Эпштейн–Барр–вирусной инфекции: вопросы диагностики и лечения / И.К. Малащенко, Н.А. Дидковский, Ж.Ш. Сарсания [и др.] // Лечащий врач. – 2003. – №9. – С. 48–51.
117. Клиническое значение иммунологических маркеров ВЭБ–инфекции при инфекционном мононуклеозе у детей / Л.М. Куртасова, И.А. Ольховский, Е.Ю.Якунина [и др.] // Клинич. лаб. диагностика. – 2005. – №12. –С 44–46.
118. Ковалева, Л.М. Ангины у детей / Л.М. Ковалева, А.А. Ланцов, О.Ю. Лакоткина. – СПб.: Гиппократ, 1995. – 150 с.
119. Кокряков, В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения / В.Н. Кокряков. – СПб.: Наука, 1999. –162 с.
120. Кокряков, В.Н. Очерки о врожденном иммунитете / В.Н. Кокряков. – СПб.: Наука, 2006. – 261 с.
121. Кондратцова, Т.П. Микрофлора небных миндалин / Т.П. Кондратцова. – К.:Здоров'я, 1979. – С. 18–31.
122. Константинова, Н. Хронический тонзиллит: проблемы и перспективы лечения / Н. Константинова, С. Морозова // Врач. – 1999. – №12. – С. 4–6.
123. Кормейн, Р.Х. Иммунология и болезни кожи / Р.Х. Кормейн, С.С. Асгар. – Пер. с англ. – М.: Медицина, 1983. – 256 с.

124. Коротяев, А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / А.И. Коротяев, С. А. Бабичев. СПб.: «СпецЛит», 1998. – 552 с.
125. Костерева, И.А. К остановке кровотечения после тонзиллэктомии / И.А. Костерева // Журн. ушн., нос. и горл. бол. – 2001. – №2. – С. 76–78.
126. Косяков, С. Я. Воспалительные заболевания наружного слухового прохода и методы их лечения / С. Я. Косяков, А.В. Курлова // Вестн. оторинолар. – 2011. – № 1. – С. 81–84.
127. Котлова, В.Б. Перинатальная Эпштейн–Барр вирусная инфекция / В.Б. Котлова // Вестн. новых мед. технологий. – 2013. – Т. 20, № 2. – С. 94–97.
128. Кочкина, С.С. Актуальные вопросы патогенеза, клинического течения и диагностики цитомегаловирусной инфекции / С.С. Кочкина, Е.П. Ситникова // Эпидемиология и инфекц. болезни. Актуальные вопросы. – 2016. – № 3. - С. 57–67.
129. Краевой, С.А. Кристаллизация сыворотки крови методом открытой капли (угловая дегидратация). Кн. 1 / С.А. Краевой, Н.А. Колтовой. – Москва–Смоленск: Электронный математический и медико–биологический журнал "Математическая морфология", 2016. – 320 с.
130. Красницкая, А.С. Особенности локального цитокинового статуса у пациентов с хроническим тонзиллитом различной этиологии / А.С. Красницкая, А.Н. Полятика // Тихоокеанский мед. журн. – 2013. – № 1. – С. 46–48.
131. Кристаллографический метод исследования биологических субстратов: Метод. рек. / Л.А. Мороз, И.Л. Теодор, В.Е. Брык [и др.]. – М., 1981. – 16 с.
132. Кристаллографическое исследование биологических субстратов / Каликштейн Д.Б., Мороз Л.А., Квитко Н.Н. [и др.] // Клинич. медицина. – 1990. – № 4. –С. 28–31.
133. Кристаллография и вискозиметрия желчи при желчнокаменной болезни /
134. Кристаллография и вискозиметрия желчи при желчнокаменной болезни / Ю.П. Потехина, П.С. Зубеев, А.В. Страхов [и др.] // Клинич. лаб. диагностика. – 2001. – № 3. – С. 33–35.
135. Круговская, Н.Л. Аллергические аденоидиты у детей: автореф. дис. ... канд.

мед. наук / Н.Л. Круговская. – М., 2008. – 24 с.

136. Кузник, Б.И. Единая клеточно–гуморальная система защиты организма / Б.И.Кузник, Н.Н.Цыбиков, Ю.А.Витковский // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2005. – №2 (22). – С. 3–16.

137. Кунельская, В.Я. Применение антимикотиков в лечении воспалительных заболеваний глотки в детском возрасте / В.Я. Кунельская, А.И. Мачулин, Е.А. Харитоновна // Рос. оторинолар. – Приложение № 1. – 2010. – С. 154–156.

138. Курдина, М.И. Отомикоз: проблема глазами дерматолога / М.И. Курдина // Иммунопатол. иммунол. аллергол. – 2002. – №4. – С. 75 – 78.

139. Кустов, М.О. Комплексное лечение воспалительных заболеваний наружного слухового прохода: автореф. дис. ... канд. мед. наук / М.О. Кустов. – СПб., 2012. – 23 с.

140. Кухтинова, Н.В. Рецидивирующие и хронические формы хламидофилеза у детей: современные стандарты диагностики, клинические особенности, схемы семейной реабилитации: информ – метод. пособие / Н.В. Кухтинова, С.А. Кротов, В.А. Кротова. – Новосибирск: АртИнфоДата, 2005. – 88 с.

141. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / В.В. Меньшиков, Л.И. Делекторская, Р.П. Золотницкая–М. [и др.]; под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.

142. Лавренова, Г.В. Фитотерапия и фитопрофилактика заболеваний уха, горла и носа / Г.В. Лавренова, К.В. Яременко. – СПб.: Спец. лит., 1995. –157 с.

143. Ланда, Р.И. Клинико–иммунологические особенности тяжело протекающих и рецидивирующих паратонзиллитов у детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Р.И. Ланда. – М., 2012. – 25 с.

144. Лебедев, К.А. Имунограмма в клинической практике / К.А. Лебедев, И.Д. Понякина. – М.:Наука, 1990. – 220 с.

145. Леонова, Л.Е. Структурные и функциональные свойства дефенсинов приматов / Л.Е. Леонова // Вестн. СПб. ун–та. Серия 3. Биология. – 2009. – № 1. – С. 133–142.

146. Лисин, В.В. Респираторный микоплазмоз / В.В. Лисин, И.Е. Коренько. – М.: ВНИИМИ, 1988. – 78 с.
147. Лобзин, Ю.В. Руководство и атлас по инфекционным и паразитарным болезням человека / под ред. Ю.В. Лобзина, С.С. Козлова. – СПб.: Феникс, 2008. – 932 с.
148. Лопотко, И.А. Острый и хронический тонзиллит, их осложнения и связь с другими заболеваниями / И.А. Лопотко, О.Ю. Лакоткина. – Л.: Медгиз, 1963. – 269 с.
149. Лоцманов, Н.А. Варианты аутогемотерапии в лечении аллергического ринита / Н.А. Лоцманов, А.Б. Князев // Рос. ринол. – 1998. – №2. – С. 10.
150. Львов, Н.Д. Герпесвирусы человека – системная, интегративная, лимфопролиферативная иммуноонкопатология / Н.Д. Львов // Рос. мед. журн. – 2012. – Т.20, №22. – С. 1133–1137.
151. Любошевский, П.А. Нарушения гемостаза как компонент хирургического стресс-ответа и возможности их коррекции / П.А.Любошевский, Н.И. Артамонова, А.М. Овечкин // Анестезиол. и реаниматол. – 2012. – № 3 – С. 44–48.
152. Любошенко, Т.М. Изучение профилей иммунного ответа у пациентов с различной активностью инфекционного процесса, вызываемого вирусом Эпштейна–Барр / Т.М. Любошенко, О.М. Куликова // Забайкальский мед. вестн. – 2014. – № 3. – С. 87–93.
153. Любошенко, Т.М. Сравнительная оценка клинико–иммунологических показателей больных с цитомегаловирусной и вызванной вирусом Эпштейна–Барр инфекциями / Т.М. Любошенко // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 7–5. – С. 988–992.
154. Макарова, М.Е. Руководство по лабораторной диагностике цитомегаловирусной инфекции для врачей / М.Е. Макарова. – М., 1996. – 19 с.
155. Макролиды в лечении бактериальных осложнений острых респираторных заболеваний у детей / С.И. Барденикова, О.В. Зайцева, Э.Э. Локшина [и др.] // Фарматека. – 2012. – № S3. – С. 12–16.
156. Максимов, С.А. Морфология твердой фазы биологических жидкостей как

метод диагностики в медицине / С.А. Максимов // Бюл. сиб. медицины. – 2007. – Т. 6, № 4. – С. 80–85.

157. Малышев, В.В. Быстродействие полупроводниковых металлоксидных толстопленочных сенсоров и их чувствительность к различным газам в воздушной газовой среде / В.В. Малышев, А.В. Писляков // Сенсор. – 2001. – №1. – С. 2–15.

158. Мальцева, Г.С. Клиническое значение определения ревматоидного фактора, С-реактивного белка, антистрептолизина-О у больных с хроническим тонзиллитом / Г.С. Мальцева, М.А. Уханова, Е.В. Тырнова // Рос. оторинолар. – 2010. – № 4. – С. 45–51.

159. Мальцева, Г.С. Применение лабораторных методологий в этиологической диагностике хронического тонзиллита / Г.С. Мальцева, Ю.К. Янов // Рос. оторинолар. – 2007. – № 2. – С. 46–55.

160. Мальцева, Г.С. Роль бета-гемолитического стрептококка группы А в тонзиллярной патологии / Г.С. Мальцева // Рос. оторинолар. – 2007. – № 3. – С. 131–139.

161. Мальцева, Г.С. Современные этиологические, патогенетические и клинические основы диагностики и лечения хронического тонзиллита: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Г.С. Мальцева. – СПб., 2008. – 46 с.

162. Мельников, О.Ф. Иммунологические аспекты генеза хронического тонзиллита и регуляции функциональной активности миндалин: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / О.Ф. Мельников. – Киев, 1981. – 41 с.

163. Мечников, И.И. Невосприимчивость в инфекционных болезнях / И.И. Мечников. – СПб., 1903. – 604 с.

164. Микробный состав микрофлоры ротоглотки у больных с тонзиллярной патологией / О.Ю. Борисова, В.А. Алешкин, А.С. Пименова [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2015. – Т. 5, № 3. – С. 225–232.

165. Микрофлора слухового прохода при наружных отитах / С. Б. Мосихин, Л.И. Решль, А.В. Безбрызгов [и др.] // Практ. мед. – 2016. – Т. 2, № 2 (94). – С. 18–23.

166. Милованова, З.П. Взятие и фиксация материала // Микроскопическая

- техника: рук. для врачей / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – С. 7–13.
167. Направления и опыт интеграции клинико–лабораторной диагностики и отраслевой медицины / Ю.В. Эмануэль, В.И. Трофимов, Н.А. Филиппова [и др.] // Клинич. лаб. диагностика. – 2013. – № 3. – С. 49–52.
168. Никулин, Б.А. Оценка и коррекция иммунологического статуса / Б.А. Никулин. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2008. – 376 с.
169. Нобл, У.К. Микробиология кожи человека / У.К. Нобл. – Пер. с англ. – М.: Медицина, 1986. – 496 с.
170. Новиков, Д.К. Клиническая иммунопатология: руководство / Д.К. Новиков, П.Д. Новиков. – М.: Мед. лит., 2009. – 464 с.
171. Новый алгоритм лечения вирус– индуцированного экссудативного среднего отита у детей / Л.Н. Хулугурова, Н.В. Щербик, А.В. Староха [и др.] // Рос.оторинолар. – 2011. – №4 (53). – С. 164–170.
172. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап: справ. пособие / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Лабинформ, 1999. – 315 с.
173. Овчинников, А.Ю. Эффективность антимикробного препарата диоксидин при лечении воспалительных заболеваний наружного и среднего уха / А.Ю. Овчинников, С. С. Егиян // Вестн. оторинолар. – 2016. – Т. 81, № 2. – С. 61–66.
174. Оптимизация выявления хронического тонзиллита в детском и юношеском возрасте в Самарском регионе, перспективы профилактики и лечение / Н.В. Еремина, С. Е. Первушкин, А.Е. Медведев [и др.] // Рос. оторинолар. – Прил. № 3. – 2008. – С. 29–33.
175. Оптимизация терапии рецидивирующего ринофарингита, ассоциированного с цитомегаловирусом или вирусом Эпштейна–Барр, у детей / Э.Б. Белан, Т.Л. Садчикова, А.А. Панина [и др.] // Фарматека. – 2015. – № 14 (307). – С. 63–66.
176. Особенности иммунного и цитокинового статусов у детей с гипертрофией лимфоидного глоточного кольца и сопутствующей аллергией к инфекционным антигенам / Е.В. Шабалдина, Н.Е. Кутенкова, А.В. Шабалдин [и др.] // Рос. оторинолар. – 2012. – №2(57). – С. 118–123.

177. Остеотропные цитокины при хроническом среднем отите с тимпаносклерозом / Р.Р. Миниахметова, А.С. Симбирцев, И.А. Аникин [и др.] // Рос. оторинолар. – 2010. – №2(45). – С. 56–60.
178. Оториноларингология: нац. руководство / под ред. В.Т. Пальчуна. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2008. – 960 с.
179. Оценка уровня иммуноглобулина Е у больных гнойно–воспалительными заболеваниями и его влияние на течение инфекционного процесса / Т.А. Дружинина, В.А. Молотиллов, А.С. Ивашев [и др.] // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. – 2008. – Т. 167, № 6. – С. 40–43.
180. Павленко, О.А. Роль вируса Эпштейна–Барра в патологии верхних отделов пищеварительного тракта у детей / О.А. Павленко, В.А. Щербак // Дальневосточ. мед. журн. – 2009. – № 3. – С. 53–55.
181. Павленко, С. А. Иммуитет при хронических воспалительных процессах наружного и среднего уха микотической и бактериальной этиологии, коррекция его нарушений / С.А. Павленко, Е.Ю. Масенко, В.С. Павленко // Проблема реабилитации в оториноларингологии: тр. конф. с междунар. участием и семинара «Актуальные вопросы фониатрии», посвящ. 80–летию акад. И.Б. Солдатов. – Самара, 2003. – С. 152–153.
182. Павленко, О.А. Роль вируса эпштейна-барра в патологии верхних отделов пищеварительного тракта у детей / О.А. Павленко, В.А. Щербак // Дальневосточный медицинский журнал. – 2009. – № 3. – С. 53–55.
183. Пальчун, В.Т. Воспалительные заболевания глотки / В.Т. Пальчун, Л.А. Лучихин, А.И. Крюков – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2007. – 288 с.
184. Пальчун, В.Т. Роль и место учения об очаговой инфекции в патогенезе и современных подходах к лечебной тактике при хроническом тонзиллите / В.Т. Пальчун, Б.М. Сагалович // Вестн. оторинолар. – 1995. – №5. – С. 5–12.
185. Паневин, П.А. О частоте кровотечений при тонзиллэктомии / П.А. Паневин // Рос. оторинолар. – 2006. – №1(20). – С. 137–140.
186. Патогенетические особенности морфологической картины фаций мочи больных хроническим пиелонефритом / С.Н. Шатохина, Л.А. Дасаева, И.С.

Шатохина [и др.] // Лечащий врач. – 2014. – №1. – С. 43–45.

187. Плужников, М.С. Заболевания наружного уха / М.С. Плужников, Г.В. Лавренова, В.В. Дискаленко. – СПб.: СПб. мед. изд-во. – 2000. – 88 с.

188. Плужников, М.С. Основные принципы иммунокорректирующей терапии в оториноларингологии / М.С. Плужников, Г.В. Лавренова, Е.Б. Катинас // Вестн. оторинолар. – 2008. – №4. С. 38–44.

189. Погосов, В.С. Вопросы патогенеза и консервативного лечения холестеатомы среднего уха: автореф. дис. ... канд. мед. наук / В.С. Погосов. – М., 1956. – 16 с.

190. Полевщиков, А.В. С-реактивный белок в оториноларингологии / А.В. Полевщиков / Мат. Всерос. симп.: «Проблемы иммунологии в оториноларингологии». – СПб., 1994. – С. 104–105.

191. Поливода, А.М. Воспалительные заболевания наружного слухового прохода и послеоперационной полости (клиника, морфология, лечение): автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.М. Поливода. – М., 2006. – 22 с.

192. Поливода, А.М. Воспалительные заболевания наружного уха / А.М. Поливода // Вестн. оторинолар. – 2006. – № 3. – С. 63–66.

193. Полиморфизм рецепторов врожденного иммунитета / А.М. Иванов, Т.А. Камилова, В.Ю. Никитин [и др.] // Вестн. ВМедА. – 2009. – № 1 (25). – С. 172–184.

194. Полукчи, А.К. Герпесвирусная инфекция / А.К. Полукчи, П.В. Нартов, А.А. Швайченко [и др.]; под ред. В.П. Малого. – М.: Эксмо, 2009. – 304 с.

195. Попа, В.А. Особенности клинического течения и лечения хронического тонзиллита у детей / В.А. Попа // Вестн. оторинолар. – 1990. – №1. – С. 38–41.

196. Попа, В.А. Хронический тонзиллит / В.А. Попа. – Кишинев: Штиница, 1984. – 256 с.

197. Попов, Е.Л. Исследование содержимого крипт при оценке декомпенсации иммунологической функции небных миндалин и эффективности консервативного лечения хронического тонзиллита / Е.Л. Попов, Г.С. Мальцева, Е.А. Медведев // Диагностика и реабилитация при заболеваниях верхних дыхательных путей: сб.

- тр. СПб НИИ уха, горла, носа и речи. – СПб.: [б.и.], 1992. – С. 8–19.
198. Попов, Е.Л. К характеристике состояния внешней иммунологической иммунологической функции небных миндалин по данным исследования материала из крипт / Е.Л. Попов, П.Н. Пущина // Актуальные вопросы физиологии и патологии верхних дыхательных путей: сб. тр. Ленингр. НИИ уха, горла, носа и речи. – М., 1982. – Т. 25 А. – С. 12–19.
199. Попов, Е.Л. Способ получения содержимого лакун небных миндалин / Е.Л. Попов, П.Н. Пущина // Журн. ушн., нос. и горл. бол. – 1987. – №4. – С. 12–15.
200. Пособие для врачей–лаборантов по методам исследований плазменного гемостаза. Факторы свертывания крови: метод. рук. / А.А. Козлов, А.Л. Берковский, Н.Д. Качалова [и др.]. – М.: Принт, 2013. – 28 с.
201. Преображенская, Ю.С. Особенности лечения пациентов с патологией лимфоэпителиального глоточного кольца, осложненной развитием экссудативного среднего отита / Ю.С. Преображенская, М.В. Дроздова // Рос. оторинолар. – 2014. – № 3. – С. 89–96.
202. Преображенский, Б.С. Ангина, хронический тонзиллит и сопряженные с ним общие заболевания / Б.С. Преображенский, Г.Н. Попова. – М.: Медицина, 1970. – 383 с.
203. Преображенский, Н.А. Экссудативный средний отит / Н.А. Преображенский, И.И. Гольдман // М.: Медицина, 1987. – 192 с.
204. Применение Аллокина–альфа в терапии вирусных инфекций: Рук. для врачей / Ф.И. Ершов, В.А. Исаков, Г.П. Беккер [и др.]. – М., СПб., 2008. – 115 с.
205. Прозоровский, С.В. Медицинская микоплазмология / С. В. Прозоровский, И.В. Раковская, Ю.В. Вульфович. – М.: Медицина, 1995. – 285 с.
206. Прозоровский, С.В. Микоплазмы и микоплазменные инфекции человека / С. В. Прозоровский, И.В. Раковская, Ю.В. Вульфович // Клинич. мед. – 1992. – Т. 10, № 9. – С. 14–19.
207. Пружняк, О.В. Микробная экология верхних дыхательных путей и антибиотики / О.В. Пружняк, Л.В. Колотилова // Антибиотики и химиотерапия. – 1989. – № 6. – С. 415–419.

208. Пути реализации гуморальной иммунологической реакции слизистой оболочки у детей с различной патологией ЛОР–органов / М.В. Дроздова, А.В. Полевщиков, С.В. Рязанцев [и др.] // Материалы 16 Съезда отоларингологов РФ. Сочи, 2001. – С. 407–410.
209. Рабсон, А. Основы медицинской иммунологии / А. Рабсон, А. Ройт, П. Делвз. – М.: Мир, 2006. – 320 с.
210. Ражабов, А.Н. Особенности клинического течения хронического тонзиллита у детей, больных хроническим гепатитом В / А.Н. Ражабов, Ф.И. Иноятова, Ш.Э. Амонов // Рос. оторинолар. – 2012. – №6(61). – С. 132–136.
211. Ратникова, Л.И. Биохимические особенности ВЭБ–инфекции (обзор литературы) / Л.И. Ратникова // Изв. вузов. Уральский регион. – 2015. – № 5. – С. 102–105.
212. Реброва, О.В. Статистический анализ медицинских данных с помощью пакета программ «Статистика» / О.В. Реброва. – М.: Медиа Сфера, 2000. – 380 с.
213. Рябчук, Ф.Н. Персистирующие инфекции у детей младшего и старшего возраста / Ф.Н. Рябчук, В.А. Александрова, З.И. Пирогова. – СПб., 2009. – 142 с.
214. Савенко, И.В. Роль Эпштейн–Барр вирусной инфекции в формировании патологии ЛОР-органов в детском возрасте / И.В. Савенко., Е.А. Комарова // Рос. оторинолар. – 2007. – № 6 (31). – С. 138–144.
215. Савенко, И.В. Эпштейна–Барр вирусная инфекция как этиологический и патогенетический фактор формирования экссудативного среднего отита в детском возрасте / И.В. Савенко, М.Д. Субботина, Е.А. Комарова // Вестн. оторинолар. – 2008. – №4. – С. 49–53.
216. Саликов, А.В. Экссудативный средний отит: функционально – морфологические изменения в носоглотке и барабанной полости, совершенствование методов их коррекции: автореф. дис. ... канд.мед.наук / А.В. Саликов. – СПб., 2010. – 9 с.
217. Самбулов, В.И. Современные аспекты диагностики и хирургического лечения хронического гнойного среднего отита у детей: автореф. дис. ... д–ра мед. наук / В.И. Самбулов. – М., 2003. – 47 с.

218. Самсыгина, Г.А. Герпес–вирусные инфекции у детей / Г.А. Самсыгина // Consil. Med. Педиатрия. – 2016. – № 2. – С. 18–23.
219. Самсыгина, Г.А. Часто болеющие дети: проблемы патогенеза, диагностика и терапия / Г.А. Самсыгина // Педиатрия. – 2005. – №1. – С. 66–73.
220. Сбойчаков, В.Б. Общая иммунология с основами клинической иммунологии / В.Б. Сбойчаков, А.В. Москалев, А.С. Рудой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 352 с.
221. Сергель, О.С. Раны и раневая инфекция: руководство для врачей / О.С. Сергель, З.Г. Гончарова. – М.: Медицина, 1990. – С. 192–196.
222. Серебренникова, С.Н. Роль цитокинов в воспалительном процессе (сообщ.2) / С.Н. Серебренникова, И.Ж. Семинский // Сиб. мед. журн. – 2008. – №8. – С. 5–8.
223. Симбирцев, А.С. Биология семейства интерлейкина–1 человека / А.С. Симбирцев // Иммунология. – 1998. – № 3. – С. 9–17.
224. Симбирцев, А.С. Интерлейкин –1. Физиология, патология, клиника / А.С. Симбирцев. – СПб.: ООО «Фолиант», 2011. – 480 с.
225. Симбирцев, А.С. Новые подходы к клиническому применению рекомбинантного интерлейкина–1b / А.С. Симбирцев // Мед. иммунология. – 1999. Т.1, №1–2. – С. 141–146.
226. Симбирцев, А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т.1, №1. – С. 9–16.
227. Симбирцев, А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека / А.С. Симбирцев // Мед. акад. журн. – 2013. – Т. 13, № 3. – С. 18–41.
228. Симбирцев, А.С. Цитокины: классификация и биологические функции / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление – 2004. – Т.3, №2. – С. 16–22.
229. Ситников, В.П. Особенности хронического гнойного воспаления среднего уха и его хирургическое лечение в экологических условиях Крайнего Севера: дис. ...д–ра мед. наук / В.П. Ситников. – М., 1985. – 350 с.
230. Ситников, В.П. Ретроспективное клинко-морфологическое обоснование целесообразности аденотомии у детей / В.П. Ситников, А.Б. Бизунков, М.Н.

Медведев // Проблемы здоровья и экологии. – 2008. – № 2 (16). – С. 69–74.

231. Смирнова, Г.И. Современная концепция лечения атопического дерматита у детей / Г.И. Смирнова // Cons.med. Педиатрия. – 2006. – №1. – С.23–25.

232. Современные аспекты герпесвирусной инфекции. Эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика: методические рекомендации / Н.В. Каражас, Н.А. Малышев, Т.Н. Рыбалкина [и др.]. – М.: Спецкнига, 2012. – 128 с.

233. Современный взгляд на микроскопический метод диагностики мочевого трихомониаза / А.М. Иванов, И.Н. Теличко, Н.В. Раздольская [и др.] // Клин. дерматология и венерология. – 2007. – № 2. – С. 28–33.

234. Солдатов И.Б. Хронический тонзиллит и другие очаги инфекции верхних дыхательных путей / И.Б. Солдатов // VII съезд оториноларингологов СССР: Программный доклад. – М.: Медицина, 1975. – С.60–66.

235. Солдатов, И.Б. Диагностика и лечение воспалительных заболеваний глотки / И.Б. Солдатов // 6 съезд оторинолар. РСФСР: тез. докл. – Оренбург: [б.и.], 1990. – С. 27–30.

236. Солдатов, И.Б. Руководство по отоларингологии / И.Б. Солдатов. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1997. – 608 с.

237. Способ диагностики холестеатомы среднего уха / В.И. Самбулов, С.Н. Шатохина, В.Г.Зенгер [и др.] // Офиц. Бюл. Рос. агентства по патентам и товарным знакам. – 1999. – № 34. – С. 318.

238. Способ диагностики холестеатомы среднего уха / В.И. Самбулов, С.Н. Шатохина, В.Г. Зенгер [и др.] // Офиц. Бюл. Рос. агентства по патентам и товарным знакам. – 2001. – № 28. – С. 267.

239. Старосветский, А.Б. Оптимизация хирургического лечения и послеоперационного ведения больных хроническим тонзиллитом: автореф. ... дис. канд. мед. наук / А.Б. Старосветский. – М., 2005. – 24 с.

240. Степанов, Е.В. Методы высокочувствительного газового анализа молекул-биомаркеров в исследованиях выдыхаемого воздуха / Е.В. Степанов // Труды ИОФАН. – 2005. – Т. 61. – С. 5–47.

241. Страчунский, Л.С. Инфекции верхних дыхательных путей и ЛОР-органов.

- Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / Л.С. Страчунский, Ю.Б. Белоусов, С.Н. Козлов; НИИ Антимикробной химиотерапии. – Смоленск, Смоленск. гос.мед. акад., 2002. – 586 с.
242. Строение и биологические функции β -спилочных антимикробных пептидов / П.В. Пантелеев, И.А. Болосов, С.В. Баландин [и др.] // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2015. – Т. 7, № 1 (24). – С. 39-50.
243. Терскова, Н.В. Клинико–иммунологические и молекулярно–генетические предикторы хронического аденоидита у детей: автореф. дис. ... д–ра мед. наук / Н.В. Терскова. – Красноярск, 2016. – 53 с.
244. Титов, В.Н. Диагностическое значение повышение уровня С–реактивного белка «в клиническом» и «субклиническом» интервалах / В.Н. Титов // Клин. лаб. Диагностика. – 2004. – № 6. – С. 3–10.
245. Титов, В.Н. С–реактивный белок: физико–химические свойства, методы определения и диагностическое значение / В.Н. Титов, О.П. Близнюков // Клин. лаб. диагностика. – 2004. – № 4. – С. 3.
246. Титов, В.Н. С–реактивный белок: физико–химические свойства, структура и специфические свойства / В.Н. Титов // Клин. лаб. диагностика. – 2004. – № 8. – С. 3–9.
247. Тырнова, Е.В. Методы клинической биохимии в диагностике хронического тонзиллита / Е.В. Тырнова, Г.С. Мальцева // Рос. оторинолар. – 2005. – №4(17). – С. 108–111.
248. Тюняева, Н.О. Инфекционный мононуклеоз: этиологические факторы, проблемы диагностики и лечения (научный обзор) / Н.О. Тюняева, Л.В. Сафронова // Вестн. новых мед. технологий. –2014. – Т. 21, №3. – С. 184–190.
249. Фаянс, А.А. Количественные критерии риноцитогаммы здорового человека А.А. Фаянс, В.П. Ершова, Т.В. Акимова // Клин. лаб. диагностика. – 1996. – №2. – С. 13–14.
250. Федорова, О.В. Современный взгляд на лечение диффузного наружного отита / О.В.Федорова, Г.Б.Шадрин // Вестн. оторинолар. – 2016. –Т. 81, № 3. – С. 51–53.

251. Функциональное состояние системы нейтрофильных гранулоцитов у детей с инфекцией, обусловленной вирусом Эпштейна–Барр / Л.Ю. Барычева, М.С. Шалина, М.В. Голубева [и др.] // Мед. вестн. Сев. Кавказа. – 2012. – Т. 25, № 1. – С. 21–25.
252. Хаитов, Р.М. Иммунология: учебник / Р.М. Хаитов. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2016. – 496 с.
253. Хаитов, Р.М. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: рук. для врачей / Р.М. Хаитов, Б.М. Пинегин, А.А. Ярилин. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2009. – 352 с.
254. Хасанов, С.А. Особенности микрофлоры небных миндалин с хроническим тонзиллитом у детей дошкольного возраста / С.А. Хасанов, Ш.З. Мухримова // Молодой ученый. – 2016. – № 25 (129). – С. 163–167.
255. Хафизова, Ф.А. Клинико–лабораторное и иммуноморфологическое обоснование тактики лечения разных клинических форм хронического тонзиллита: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук / Ф.А. Хафизова. – М., 2012. – 45 с.
256. Хламидийная инфекция у детей, страдающих хроническим аденоидитом / Т.А. Капустина, Е.В. Белова, В.Т. Манчук [и др.] // Вестн. оторинолар. – 2008. – №2. – С. 23–26.
257. Хламова, О.Г. Перекисное окисление липидов и эндогенная интоксикация в патогенезе герпетического стоматита на фоне хронического тонзиллита / О.Г. Хламова, А.А Шульдяков., А.В. Лепилин // Клинич. лаб. диагностика. – 2011. – № 10. – С. 41b.
258. Хроническая инфекция вируса Эпштейна–Барр у детей: современные аспекты диагностики и лечения / Э.Н. Симованьян, В.Б. Денисенко, А.М. Сарычев, А.В. Григорян // Cons. med. Педиатрия. 2006. – № 2. – С. 29–35.
259. Хэм, А. Гистология / А. Хэм, Д. Кормак. –Пер. с англ. – М.: Мир, 1983. –Т.4. – 496 с.
260. Цветков, Э.А. Адено tonsзиллиты и их осложнения у детей. Лимфоэпителиальное глоточное кольцо в норме и патологии / Э.А. Цветков. – СПб.: ЭЛБИ, 2003. – 124с.

261. Цинзелинг, А.В. Выявление простейших, бактерий, вирусов, грибов / А.В. Цинзелинг, Н.Б. Шалыгина // Микроскопическая техника: рук. для врачей / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – С. 16–28.
262. Цитологическая диагностика заболеваний ЛОР–органов / И.Л. Теодор, Ф.И. Чумаков, С. Н.Шатохина [и др.]. – М.: МОНИКИ, 1995. – С. 18–26.
263. Цкоева, А.Ю. Компонентная аутогемотерапия в комплексном лечении бронхиальной астмы и предастмы: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.Ю. Цкоева. – СПб., 2002. – 21 с.
264. Черношей, Д.А. Распознавание в системе врожденного иммунитета: учебно-метод. пособие / Д.А. Черношей, Е.Ю. Кирильчик, Т.А. Канашкова. – Минск: БГМУ, 2010. – 66 с.
265. Шабалин, В.Н. Аутогенные ритмы и самоорганизация биологических жидкостей / В.Н. Шабалин, С. Н. Шатохина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1996. – № 10. – С. 364–371.
266. Шабалин, В.Н. Принципы аутоволновой самоорганизации биологических жидкостей / В.Н. Шабалин, С. Н. Шатохина // Вестн. РАМН. – 2000. – № 3. – С. 45–49.
267. Шабалина, С.В. Содержание бактерицидного белка ВРІ у детей с пневмониями / С. В. Шабалина, А.В. Тутельян, Т.А. Ковтун // Мат. VII Ежегодного Всерос. Конгр. по инфекционным болезням с международным участием (30 марта –1 апреля 2015). – М., 2015. – С. 374.
268. Шатохина, С. Н. Морфология биологических жидкостей организма человека / С. Н. Шатохина, В.Н. Шабалин. – М.: Наука, 2001. – 361 с.
269. Шатохина, С.Н. Особенности структуры перитонеального экссудата при спаечной болезни у детей с аппендикулярным перитонитом / С.Н. Шатохина, В.Н. Шабалин, Д.С. Уварова // Патогенез. –2015. – Т. 13, № 2. – С. 39–41.
270. Шатохина, С.Н. Структуры неклоточных тканей организма и их значение в оториноларингологии / С.Н. Шатохина, В.И. Самбулов // Альманах клинической медицины. – 2016. – Т. 44, № 7. – С. 857–865.
271. Шатохина, С.Н. Феномен патологической кристаллизации

- камнеобразующих солей мочи при уролитиазе / С. Н. Шатохина, В.Н. Шабалин // Урология и нефрология. – 1998. – № 2. – С. 16–19.
272. Шилова, О.Ю. Ассоциация рака гортани с вирусами папилломы человека и Эпштейна–Барр / О.Ю. Шилова // Сибир. онкол. журн. – 2007. – Прил. № 2 – С. 126–127.
273. Шиффман, Ф. Дж. Патология кровей / Ф. Дж. Шиффман – Пер. с англ. – М.: «БИНОМ», 2009 – 448 с.
274. Щербак, В.А. Современные представления о цитомегаловирусной инфекции у детей раннего возраста / В.А. Щербак, Н.Г. Попова, Н.Н. Степанова // Забайкальский мед. вестн. – 2013. – № 1. – С. 166–174.
275. Экссудативный средний отит / И.В. Савенко, М.Ю. Бобошко, А.И. Лопотко [и др.]. – СПб.: «Диалог», 2010. – 78 с.
276. Эмануэль, В.Л. Гармонизация в лабораторной медицине – современный подход совершенствования качества клинико–лабораторных исследований (лекция) / В.Л. Эмануэль, Л.А. Хоровская, А. Каллнер // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. – №3. – С. 25–32.
277. Эмануэль, В.Л. Принципы обеспечения качества лабораторной диагностики / В.Л. Эмануэль // Журн. акушерства и женских бол. – 2007. – № S1. – С. 24–26.
278. Эндогенные антимикробные пептиды как маркеры инфекционного процесса при талассемии / Г.И. Азизова, А.Р. Дадашова, Г.Р. Вагабова [и др.] // Междунар. мед. журн. – 2014. – Т. 20, № 2. – С. 100–103.
279. Эфендиев, А.М.О. Роль иммунного статуса и эндогенных антимикробных пептидов в патогенезе хронического гепатита С / А.М.О. Эфендиев, З.Г.К. Хидаятова // Казан. мед. журн. – 2015. – Т. 96, № 2. – С. 186–191.
280. Эффективность различных методов иммунодиагностики стафилококковой инфекции при хроническом тонзиллите / П.Н. Дерябин, С. Е. Тайбогаров, А.В. Безель [и др.] // Проблемы иммунологии в оториноларингологии: Мат. Всерос. Симп. – СПб.: [б.и.], 1994. – С. 11–12.
281. Юнкеров, В.И. Математико–статистическая обработка данных медицинских исследований. Лекции для адъюнктов и аспирантов / В.И. Юнкеров, С. Г.

Григорьев. – СПб.:ВМедА, 2005. – 266 с.

282. Яковенко, В.Д. К вопросу о причинно–следственных взаимосвязях в патогенезе хронического тонзиллита, как инфекционно–аллергического процесса / В.Д. Яковенко, В.Д. Филатов, И.Л. Дикий // Вестн. оторинол. – 1990. – №2. – С. 52–56.

283. Янов, Ю.К. Антибактериальная терапия в оториноларингологии и основные принципы доказательной медицины / Ю.К. Янов, И.А. Антушева // Рос. оторинолар. – 2004. – №3 (10). – С. 122 – 124.

284. Ярыгин, А.А. Иммунология: учебник / А.А. Ярыгин. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 752 с.

285. Яцык, Г.В. Цитомегаловирусная инфекция / Г.В. Яцык, Н.Д. Одинаева, И.А. Беляева // Практика педиатра. В помощь врачу. – 2009. – №10. – С. 5–12.

286. [Expression and significance of IFN- γ and IL-4 in the effusion and peripheral blood of chronic otitis media with effusion patients] / C.H. Qin, S.Q. Zhao, L. Yang [et al.] // Zhonghua Yi Xue Za Zhi. – 2013. – Vol. 93, №20. – P. 1559–1562.

287. [Selected aspects of Chlamydophila pneumoniae infections] / A. Jama-Kmiecik, M. Frej-Mądrzak, J. Sarowska [et al.] // Postepy Hig. Med. Dosw. (Online). – 2015. – Vol. 11, №69. – P. 612–623.

288. A newly discovered function of palatine tonsils in immune defence: the expression of defensins / J.B. Weise, J.E. Meyer, H. Helmer [et al.] // Otolaryngol. Pol. 2002. – Vol. 56(4). – P. 409–413.

289. A role for Waldeyer's ring in immunological response to allergens / S. Masieri, D. Trabattoni, C. Incorvaia [et. al.] // Curr. Med. Res. Opin. – 2014. – Vol. 30(2). – P. 203–205.

290. Activating receptors promote NK cell expansion for maintenance, IL-10 production, and CD8 T cell regulation during viral infection / S.H. Lee, K.S. Kim, N. Fodil-Cornu [et al.] // J. Exp. Med. – 2009. – Vol. 206. – P. 2235–2251.

291. Activity of α - and θ -defensins against primary isolates of HIV-1 / W. Wang, S.M. Owen, D.L. Rudolph [et al.] // J. Immunol. – 2004. – Vol. 173. – P. 515–520.

292. Acute otitis media severity: association with cytokine gene polymorphisms and

- other risk factors / D. P. McCormick, J.J. Grady, A. Diego [et al.] // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* – 2011. – Vol. 75, №5. – P. 708–712.
293. Adenoid reservoir for pathogenic biofilm bacteria / L. Nistico, R. Kreft, A. Gieseke [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2011. – Vol. 47 (4). – P. 1411-1420.
294. Alpha-defensin enhances expression of HSP47 and collagen-1 in human lung fibroblasts / S. Yoshioka, H. Mukae, H. Ishii [et al.] // *Life Sci.* – 2007. – Vol. 80(20). – P. 1839–1845.
295. Alugupalli, S. Systematic study of the 3-hydroxy fatty acid composition of mycobacteria / S. Alugupalli, F. Portaels, L. Larsson // *J. Bacteriol.* – 1994. – Vol. 176, №10. – P. 2962–2969.
296. Alving K. Recommendation for standardized procedures for the measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide / K. Alving // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1999. – Vol. 160, №6. – P. 2104- 2117.
297. An assessment of the value of the preoperative computed tomography scans prior to otoendoscopic 'second look' in intact canal wall mastoid surgery / P.A. Tierney, P. Pracy, S.P. Blaney [et al.] // *Clin. Otolaryngol. Allied. Sci.* – 1999. – Vol. 24(4). – P. 274–276.
298. An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls / S. Dragonieri, R. Schot, B. Mertens [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 120. – P. 856–862.
299. Analysis of biogenic volatile organic compounds in human health and disease / J. Dummer, M. Storer, M. Swanney [et al.] // *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* – 2011. – Vol. 30 (7). – P. 960-967.
300. Antimicrobial peptides human β -defensins stimulate epidermal keratinocyte migration, proliferation and production of proinflammatory cytokines and chemokines / F. Niyonsaba, H. Ushio, N. Nakano [et al.] // *J. Investigative Dermatol.* – 2007. – Vol. 127. – P. 594–604.
301. Assessment of the antimicrobial activity of algae extracts on bacteria responsible of external otitis / G. Pane, G. Cacciola, E. Giacco [et al.] // *Mar. Drugs.* – 2015. – Vol. 13(10). – P. 6440–6452.

302. Association between cytokine gene polymorphisms and risk for upper respiratory tract infection and acute otitis media / K. Revai, J.A. Patel, J.J. Grady [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2009. – 49(2). – P. 257–261.
303. Atkins, P.W. The second law / P.W. Atkins. – New York : Scientific American Books, 1984. – 234 p.
304. Atkinson, H. Otitis media with effusion / H. Atkinson, S. Wallis, A.P. Coatesworth // Postgrad. Med. – 2015. – Vol. 127(4). – P. 381–385.
305. Ayache, S. Otoendoscopy in cholesteatoma surgery of the middle ear: what benefits can be expected? / S. Ayache, B. Tramier, V. Strunski // Otol. Neurotol. – 2008. – Vol. 29(8). – P. 1085–1090.
306. Ayache, S. Otoendoscopy in cholesteatoma surgery of the middle ear: what benefits can be expected? / S. Ayache, B. Tramier, V. Strunski // Otol. Neurotol. – 2008. – Vol. 29. – P. 1085–1090.
307. Bachert, C. The tonsils as MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) of the nasal mucosa / C. Bachert, P. Moller // Laryngorhinootologie. – 1990. – Vol. 69. – P. 515–520.
308. Barakate, M. Combined approach tympanoplasty for cholesteatoma: impact of middle ear endoscopy / M. Barakate, I. Bottrill // J. Laryngol. Otol. – 2008. – Vol. 122. – P. 120–124.
309. Bean, H.D. Characterizing bacterial volatiles using secondary electrospray ionization mass spectrometry (SESI-MS) / H.D. Bean, J. Zhu, J.E. Hill // J. Vis. Exp. – 2011. – Vol. 52. – pii: 2664.
310. Beta-defensins: Linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6 / D. Yang, O. Chertov, S.N. Bykovskaia [et al.] // Science. – 1999. – Vol. 286. – P. 525–528.
311. Bevins, C.L. Antimicrobial peptides as effector molecules of mammalian host defense / C.L. Bevins // Contrib. Microbiol. – 2003. – Vol. 10. – P. 106–148.
312. Biomarkers to predict asthma in wheezing preschool children / M.A. Bannier, K.D. van de Kant, Q. Jöbsis [et al.] // Clin. Exp. Allergy. – 2015. – Vol. 45(6). – P. 1040–1050.

313. Blasi, F. *Chlamydomphila pneumoniae* / F. Blasi, P. Tarsia, S. Aliberti // Clin. Microbiol. Infect. – 2009. – Vol. 15(1). – P. 29–35.
314. Brandtzaeg, P. Function of mucosa-associated lymphoid tissue in antibody formation / P. Brandtzaeg // Immunol Invest. – 2010. – Vol. 39, №4–5. – P. 303–355.
315. Brandtzaeg, P. Immunology of tonsils and adenoids: everything the ENT surgeon needs to know / P. Brandtzaeg // Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. – 2003. – Vol. 67, Suppl. 1. – P. 69–76.
316. Breath analysis in real time by mass spectrometry in chronic obstructive pulmonary disease / P. Martinez-Lozano Sinues, L. Meier, C. Berchtold [et al.] // Respiration. – 2014. – Vol. 87(4). – P. 301–310.
317. Breath pentane excretion as a marker of disease activity in rheumatoid arthritis. Humad S., Zarling E., Clapper M. [et al.] // Free Radic. Res. Commun. – 1988. – Vol. 5. – P. 101–106.
318. Broad-spectrum antimicrobial activity of human intestinal defensin 5 / E.M. Porter, E. van Dam, E.V. Valore [et al.] // Infect. Immun. – 1997. – Vol. 65. – P. 2396–2401.
319. Brondz, I. Multivariate analyses of cellular fatty acids in *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Wolinella* and *Campylobacter* spp. / I. Brondz, I. Olsen // J. Clin. Microb. – 1991. – № 29. – P. 183–189.
320. Broza, Y.Y. Combined volatilomics for monitoring of human body chemistry / Y.Y. Broza, L. Zuri, H. Haick // Sci. Rep. – 2014. – Vol. 4. – P. 4611.
321. Bucolo, G. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes / G. Bucolo, H. David // Clin. Chem. – 1973. – Vol. 19, №5. – P. 476–482.
322. C reactive protein (CRP) as a predictor for true bacteremia in children / R. Shaoul, A. Lahad, A. Tamir [et al.] // Med. Sci. Monit. – 2008. – Vol. 14(5). – CR. 255–261.
323. Canal wall down tympanoplasty surgery with or without ossiculoplasty in cholesteatoma: hearing results / A. Artuso, W. di Nardo, E. De Corso [et al.] // Acta Otorhinolaryngol. Ital. – 2004. – Vol. 24– № 1. – P. 2–7.
324. Cassano, P. Otitis media and immunological alterations of Waldeyer's ring / P.

- Cassano, M. Cassano // *Adv. Otorhinolaryngol.* – 2011. – Vol. 72. – P. 164–169.
325. Cathelicidins have direct antiviral activity against respiratory syncytial virus in vitro and protective function in vivo in mice and humans / S.M. Currie, E. Gwyer Findlay, A.J. McFarlane [et al.] // *J. Immunol.* – 2016. – Vol. 196(6). – P. 2699–2710.
326. CD14-dependent lipopolysaccharide-induced beta-defensin-2 expression in human tracheobronchial epithelium / M.N. Becker, G. Diamond, M.W. Verghese [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 29731–29736.
327. Cell adhesion molecules and cytokines in middle ear effusions in children with or without recent acute otitis media / E.I. Russo, C.W. Smith, E.M. Friedman [et al.] // *Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2004. – Vol. 130, №2. – P. 242–248.
328. Cellular fatty acid analysis in the differentiation of *Clostridium* in the clinical microbiology laboratory / S.D. Allen, J.A. Siders, M.J. Riddell [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 1995. – №20. – P. 198–201.
329. Chambers, S.T. Developments in novel breath tests for bacterial and fungal pulmonary infection / S.T. Chambers, A. Scott-Thomas, M. Epton // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2012. – Vol. 18(3). – P. 228–232.
330. Chaudhry, R. Pathogenesis of *Mycoplasma pneumoniae*: An update / R. Chaudhry, A. Ghosh, A. Chandolia // *Indian J. Med. Microbiol.* – 2016. – Vol. 34(1). – P. 7–16.
331. *Chlamydia pneumoniae* sp. nov. for *Chlamydia* sp. strain TWAR / J.T. Grayston, C.C. Kuo, L.A. Campbell [et al.] // *Int. J. Syst. Bacteriol.* – 1989. – Vol. 39. – P. 88–90.
332. Ciprofloxacin plus fluocinolone acetonide versus ciprofloxacin alone in the treatment of diffuse otitis externa / J. Lorente, F. Sabater, M. P. Rivas [et al.] // *J. Laryngol. Otol.* – 2014. – Vol. 128(7). – P. 591–598.
333. Cohen, J.I. Epstein–Barr virus infection / J.I. Cohen // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – Vol. 343. – P. 481–492.
334. Cohen, J.I. Primary immunodeficiencies associated with EBV disease / J.I. Cohen // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 2015. – Vol. 390 (Pt 1). – P. 241–265.
335. Complete sequence analysis of the genome of the bacterium *Mycoplasma pneumoniae* / R. Himmelreich, H. Hilbert, H. Plagens [et al.] // *Nucleic Acids Res.* –

1996. – Vol. 24. – P. 4420–4449.

336. Congenital cytomegalovirus infection: a long– standing problem still seeking a solution / Z.J. Hagay, G. Biran, A. Ornoy [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1996. – Vol. 174 (1 Pt 1). – P. 241– 245.

337. Correlation between presence of viable bacteria and presence of endotoxin in middle–ear effusions / J.R. Dingman, M.G. Rayner, S. Mishra [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 1998. – Vol. 36. – P. 3417–3419.

338. Critical role for STAT4 activation by type 1 interferons in the interferon– gamma response to viral infection / K.B. Nguyen , W.T. Watford, R. Salomon [et al.] // *Science.* – 2002. – Vol. 297. – P. 2063–2066.

339. Cruveilhier, J. *Anatomie Pathologique du Corps Humain* / J. Cruveilhier. Baillière Tindall, Paris, France, 1829.

340. Cutting edge: Cationic antimicrobial peptides block the binding of lipopolysaccharide (LPS) to LPS binding protein / M.G. Scott, A.C. Vreugdenhil, W.A. Buurman [et al.] // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 164. – P. 549–553.

341. Cutting edge: IFNinducible ELR–CXC chemokines display defensin–like antimicrobial activity / A.M. Cole, T. Ganz, A.M. Liese [et al.] // *J. Immunol.* – 2001. – Vol. 167. – P. 623–627.

342. Davcheva–Chakar M. Adenoid vegetations – reservoir of bacteria for chronic otitis media with effusion and chronic rhinosinusitis / M. Davcheva–Chakar, A. Kaftandzhieva, B. Zafirovska // *Pril. (Makedon. Akad. Nauk Umet. Odd. Med. Nauki).* – 2015. – Vol. 36(3). – P. 71–76.

343. Davie, E.W. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting / E.W. Davie, O.D. Ratnoff // *Science.* – 1964. – Vol. 145, №3638. – P. 1310–1312.

344. Defensin and chemokine expression patterns in the palatine tonsil: a model of their local interaction / J.E. Meyer, U.H. Beier, T. Görögh [et al.] // *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* – 2006. – Vol. 263, №4. – P. 319–326.

345. Defensins potentiate a neutralizing antibody response to enteric viral infection / A. P. Gounder, N.D. Myers, P. M. Treuting [et. al.] // *PLoS Pathog.* – 2016. – Vol. 12, №3. – e1005474.

346. Defensins. Natural peptide antibiotics of human neutrophils / T. Ganz, M.E. Selsted, D. Szklarek [et. al.] // *J. Clin. Invest.* – 1985. – Vol. 76. – P. 1427–1435.
347. Detecting cancer by breath volatile organic compound analysis: a review of array-based sensors / N. Queralto, A.N. Berliner, B. Goldsmith [et al.] // *J. Breath. Res.* – 2014. – Vol. 8(2). – P. 027112.
348. Detection and identification of cancers by the electronic nose / A. D'Amico, C. Di Natale, C. Falconi [et al.] // *Expert. Opin. Med. Diagn.* – 2012. – Vol. 6(3). – P. 175–185.
349. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* (TB) in vitro and in situ using an electronic nose in combination with a neural network system / A.K. Pavlou, N. Magan, J.M. Jones [et al.] // *Biosens. Bioelectron.* – 2004. – Vol. 20(3). – P. 538–544.
350. Detection of prostate cancer by an electronic nose: a proof of principle study / A. Roine, E. Veskimäe, A. Tuokko [et al.] // *J. Urol.* – 2014. – Vol. 192(1). – P. 230–234.
351. Determination of endotoxins by gas chromatography: evaluation of electron-capture and negative-ion chemical-ionization mass spectrometric detection of halogenated derivatives of beta-hydroxymyristic acid / A. Sonesson, L. Larsson, G. Westerdahl [et al.] // *J. Chromatogr.* – 1987. – Vol. 417, №1. – P. 11–25.
352. Determination of the epidemiology and transmission of nontypable *Haemophilus influenzae* in children with otitis media by comparison of total genomic DNA restriction fingerprints / B.G. Loos, J.M. Bernstein, D.M. Dryja [et al.] // *Infect. Immun.* – 1989. – Vol. 57, №9. – P. 2751–2757.
353. Device-independent, real-time identification of bacterial pathogens with a metal oxide-based olfactory sensor / Bruins M., Bos A., Petit P.L.C. [et al.] // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2009. – Vol. 28775–780.
354. Dhople, V. The human beta-defensin-3, an antibacterial peptide with multiple biological functions / V. Dhople, A. Krukemeyer, A. Ramamoorthy // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2006. – Vol. 1758. – P. 1499–1512.
355. Diagnostic accuracy of lipopolysaccharide-binding protein as biomarker for sepsis in adult patients: a systematic review and meta-analysis / K.F. Chen, C.H. Chaou, J.Y. Jiang [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11(4). – e.0153188.

356. Diamond, G. β -Defensins. Endogenous antibiotics of the innate host defense response / G. Diamond, C.L. Bevins // Clin. Immunol. Immunopathol. – 1998. – Vol. 88. – P. 221–225.
357. Distribution and molecular characterization of human adenovirus and epstein-barr virus infections in tonsillar lymphocytes isolated from patients diagnosed with tonsillar diseases / F. Assadian, K. Sandstrom, K. Bondeson [et al.] // PLoS One. – 2016. – Vol. 11(5). – e0154814.
358. Donabedian, A. Evaluating the quality of medical care. 1966 / A. Donabedian // Milbank Q. – 2005. – Vol. 83(4). – P. 691–729.
359. Döner, F. The role of allergy in recurrent otitis media with effusion / F. Döner, M. Yariktaş, M. Demirci // J. Invest. Allergol. Clin. Immunol. – 2004. – Vol. 14, № 4. – P. 154–158.
360. Du Verney, J.G. Traité de l'Organe de l'Ouïe / J.G. Du Verney. – E. Michaillet, Paris, France, 1683.
361. Effect of inhibitor of tumor necrosis factor- α and oxatomide on immune mediated otitis media / Y.S. Park, H.J. Auo, E.J. Jeon [et al.] // Laryngoscope. – 2006. – Vol. 116, №9. – P. 1642–1646.
362. Effect of inhibitor of tumor necrosis factor- α on experimental otitis media with effusion / E.J. Jeon, Y.S. Park, Y.C. Choi [et al.] // Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. – 2001. – Vol. 110, №10. – P. 917–921.
363. Elevated concentrations of human neutrophil peptides in plasma, blood, and body fluids from patients with infections / T. Ihi, M. Nakazato, H. Mukae [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 1997. – Vol. 25(5). – P. 1134–40.
364. Elsbach, P. The bactericidal / permeability-increasing protein (BPI), a potent element in host-defense against gram-negative bacteria and lipopolysaccharide / P. Elsbach, J. Weiss // Immunobiology. – 1993. – Vol. 187(3–5). – P. 417–429.
365. Emerging from obscurity: Understanding pulmonary and extrapulmonary syndromes, pathogenesis, and epidemiology of human Mycoplasma pneumoniae infections / D.F. Talkington, K.B. Waites, S.B. Schwartz [et al.] // Emerging Infections.

Vol. 5 / Scheld W.M., Craig W.A., Hughes J.M., editors. – Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 2001. – P. 57–84.

366. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis / P.Y. Ong, T. Ohtake, C. Brandt [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – Vol. 347 (15). – P. 1151–1160.

367. Enterotoxin-specific IgE responses in humans after infection or vaccination with diarrhea-causing enteropathogens / F. Qadri, M. Asaduzzaman, C. Wenneras [et al.] // *Infect. Immunol.* – 2000. – Vol. 68. – P. 6077–6081.

368. Epstein–Barr virus (EBV) in infectious mononucleosis: detection of the virus in tonsillar B lymphocytes but not in desquamated oropharyngeal epithelial cells / G. Niedobitek, A. Agathangelou, N. Steven [et al.] // *Mol. Pathol.* – 2000. – №53. – P. 37–42.

369. Epstein–Barr virus (EBV)–infected monocytes facilitate dissemination of EBV within the oral mucosal epithelium / S. Tugizov, R. Herrera, P. Velupillai [et al.] // *J. Virol.* – 2007. – Vol. 81, № 11. – P. 5484– 5496.

370. Epstein–Barr virus infections: biology, pathogenesis, and management / S.E. Straus, J.I. Cohen, G. Tosato [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 1993. – Vol. 118, № 1. – P. 45–58.

371. Epstein–Barr virus quantitation by real–time PCR targeting multiple gene segments: a novel approach to screen for the virus in paraffin–embedded tissue and plasma / J.L. Ryan, H. Fan, S.L. Glasser [et al.] // *J. Mol. Diagn.* – 2004. – Vol. 6, № 4. – P. 378–385.

372. Evaluation of second look procedures for pediatric cholesteatomas / T.R. McRackan, W.M. Abdellatif, G.B.Wanna [et al.] // *Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2011. – Vol. 145, №1. – P. 154–160.

373. Everett, K.D. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms / K.D. Everett, R.M. Bush, A.A. Andersen // *Int. J. Syst. Bacteriol.* – 1999. – Vol. 49, Pt. 2. –

P. 415–440.

374. Exhaled breath analysis by electronic nose in airways disease. Established issues and key questions / N. Fens, M.P. van der Schee, P. Brinkman [et al.] // *Clin. Exp. Allergy*. – 2013. – Vol. 43(7). – P. 705–715.

375. Exhaled breath analysis by electronic nose in respiratory diseases / S. Scarlata, G. Pennazza, M. Santonico [et al.] // *Expert. Rev. Mol. Diagn.* – 2015. – Vol. 15(7). – P. 933–56.

376. Exhaled breath profiling enables discrimination of chronic obstructive pulmonary disease and asthma / N. Fens, A.H. Zwinderman, M.P. van der Schee [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 180. – P. 1076–1082.

377. Exhaled methyl nitrate as a noninvasive marker of hyperglycemia in type 1 diabetes / B.J. Novak, D.R. Blake, S. Meinardi [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 104. – P. 15613–15618.

378. External validation of exhaled breath profiling using an electronic nose in the discrimination of asthma with fixed airways obstruction and chronic obstructive pulmonary disease / N. Fens, A.C. Roldaan, M. P. van der Schee [et al.] // *Clin. Exp. Allergy*. – 2011. – Vol. 41 (10). – P. 1371–1378.

379. FALL–39, a putative human peptide antibiotic, is cysteine–free and expressed in bone marrow and testis / B. Agerberth, H. Gunne, J.J. Odeberg [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1995. – Vol. 92. – P. 195–199.

380. Fast detection of volatile organic compounds from bacterial cultures by secondary electrospray ionization-mass spectrometry / J. Zhu, H.D. Bean, Y.M. Kuo [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2010. – Vol. 48(12). – P. 4426–4431.

381. Faulkner, G.C. The ins and outs of EBV infection / G.C. Faulkner, A.S. Krajewski, D.H. Crawford // *Trends Microbiol.* – 2000. – Vol. 8(4). – P. 185–189.

382. Fossati, P. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide / P. Fossati, L. Prencipe // *Clin. Chem.* – 1982. – Vol. 28, №10. – P. 2077–2080.

383. Functional and biochemical characterization of epithelial bactericidal / permeability-increasing protein / G. Canny, E. Cario, A. Lennartsson [et al.] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2006. – Vol. 290. – P. G557–567.
384. Gardner, J.W. A brief history of electronic noses / J.W. Gardner, P.N. Bartlett // *Sens. Actuators B.* – 1994. – Vol. 18. – P. 210–220.
385. Gas chromatographic applications in microbiology and medicine / B. M. Mitruka. – NY: John Wiley & Sons, 1975. – 472 p.
386. Gates, S.C. Quantitative metabolic profiling based on gas chromatography / S.C. Gates, C.C. Sweeley // *Clin. Chem.* – 1978. – Vol. 24(10). – P. 1663–1673.
387. Gelatinolytic activity of matrix metalloproteinases 2 and 9 in middle ear cholesteatoma / D. Suchozebrska-Jesionek, M. Szymański, J. Kurzepa [et al.] // *J. Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2008. – Vol. 37, №5. – P. 628–632.
388. Grevers, G. Significance of vascular endothelium for specific functional behavior of nasal mucosa / G. Grevers, C. Sturm // *Laryngorhinootologie.* – 1997. – Vol. 76, №7. – P. 398–404.
389. Griffiths, W.J. Mass spectrometry: from proteomics to metabolomics and lipidomics / W.J. Griffiths, Y. Wang // *Chem. Soc. Rev.* – 2009. – Vol. 38(7). – P. 1882–1896.
390. Gulley, M.L. Laboratory assays for Epstein–Barr virus-related disease / M.L. Gulley, W. Tang // *J. Mol. Diagn.* – 2008. – Vol. 10, № 4. – P. 279–292.
391. Hajioff D. Otitis externa / D. Hajioff, S. MacKeith // *BMJ Clin. Evid.* – 2010. – Vol. 2010. – pii: 0510.
392. Haken, H. Information and self-organization. A macroscopic approach to complex systems / H. Haken. – Berlin : Springer Verlag, 1988. – 196 p.
393. Hayashi, F. Toll-like receptors stimulate human neutrophil function / F. Hayashi, T.K. Means, A.D. Luster // *Blood.* – 2003. – Vol. 102(7). – P. 2660–2669.
394. Hazlett, L. Defensins in innate immunity / L. Hazlett, M. Wu // *Cell Tissue Res.* – 2011. – Vol. 343(1). – P. 175–188.
395. Hellings, P. The Waldeyer's ring / P. Hellings, M. Jorissen, J.L. Ceuppens // *Acta Otorhinolaryngol. Belg.* – 2000. – Vol. 54. – P. 237–241.

396. Herpesvirus prevalence and viral load in healthy blood donors by quantitative real-time polymerase chain reaction / S.D. Hudnall, T. Chen, P. Allison [et. al.] // *Transfusion*. – 2008. – Vol. 48, № 6. – P. 1180–1187.
397. HIV-1-neutrophil interactions trigger neutrophil activation and Toll-like receptor expression / D.M. Giraldo, J.C. Hernandez, P. Velilla [et al.] // *Immunol. Res.* – 2016. – Vol. 64(1). – P. 93–103.
398. Hoffman, M. A cell-based model of hemostasis / M. Hoffman, D.M. Monroe 3rd. // *Thromb. Haemost.* – 2001. – Vol. 85, №6. – P. 958–965.
399. Holmes, R.D. Epstein–Barr virus and posttransplant lymphoproliferative disease / R.D. Holmes, R.J. Sokol // *Pediatr. Transplant.* – 2002. – Vol. 6. – № 6. – P. 456–464.
400. Horning, E.C. Metabolic profiles: gas-phase methods for analysis of metabolites / E.C. Horning, M.G. Horning // *Clin. Chem.* – 1971. – Vol. 17(8). – P. 802–809.
401. Host antimicrobial proteins as endogenous immunomodulators / M.A. Hözl, J. Hofer, P. Steinberger [et. al.] // *Immunology Lett.* – 2008. – Vol. 119. – P. 4–11.
402. Human α -defensins / M. Pazgier, D.M. Hoover, D. Yang [et al.] // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2006. – Vol. 63. – P. 1294–1313.
403. Human defensins / J.J. Schneider, A. Unholzer, M. Schaller [et al.] // *J. Mol. Med.* – 2005. – Vol. 83. – P. 587– 595.
404. Human herpesviruses: biology, therapy and immunoprophylaxis / A. Arvin, G. Campadelli–Fiume, E. Mocarski [et al.]. – Cambridge: University Press, 2007. – 1408 p.
405. Human neutrophil peptide–1 inhibits both the classical and the lectin pathway of complement activation / T.W. Groeneveld, T.H. Ramwadhoebé, L.A. Trouw [et. al.] // *Mol. Immunol.* – 2007. – Vol. 44(14). – P. 3608–3614.
406. Human neutrophil α -defensin 4 inhibits HIV–1 infection in vitro / Z. Wua, F. Cocchia, D. Gentlesa [et al.] // *FEBS Lett.* – 2005. – Vol. 579. – P. 162–166.
407. Human neutrophils express immunoglobulin E (IgE)–binding proteins (Mac–2 / epsilon BP) of the S–type lectin family: role in IgE–dependent activation / M.J. Truong, V. Gruart, J. P. Kusnierz [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1993. – Vol. 177. – P. 243–248.
408. Identification of airway bacterial colonization by an electronic nose in chronic

- obstructive pulmonary disease / O. Sibila, L. Garcia-Bellmunt, J. Giner [et al.] // *Respir. Med.* 2014. – Vol. 108(11). – P. 1608–1614.
409. Identification of clinical criteria for group A–beta hemolytic streptococcal pharyngitis in children living in a rheumatic fever endemic area // A. Bassili, S. Barakat, G.E. Sawaf [et al.] // *J. Trop. Pediatr.* – 2002. – Vol. 48, №5. – P. 285–293.
410. Identification of Epstein–Barr virus (EBV)–infected lymphocyte subtypes by flow cytometric in situ hybridization in EBV–associated lymphoproliferative diseases / H. Kimura, K. Miyake, Y. Yamauchi [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2009. – Vol. 200, № 7. – P. 1078–1087.
411. IL–6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses / Z. Xing, J. Gauldie, G. Cox [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1998. – Vol. 101(2). – P. 311–320.
412. IL–6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation / G. Kaplanski, V. Marin, F. Montero–Julian [et al.] // *Trends Immunol.* – 2003. – Vol. 24(1). – P. 25–29.
413. Immunologic characteristics of cytokines in otitis media with effusion / T. Himi, T. Suzuki, H. Kodama [et. al.] // *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. Suppl.* – 1992. – Vol. 157. – P. 21–25.
414. Immunologic evaluation of patients with recurrent ear, nose, and throat infections / A. Aghamohammadi, M. Moin, A. Karimi [et al.] // *Am. J. Otolaryngol.* – 2008. – Vol. 29, № 6. – P. 385–392.
415. Infections caused by *Chlamydophila pneumoniae* / I. Choroszy-Król, M. Frej-Mądrzak, M. Hober [et al.] // *Adv. Clin. Exp. Med.* – 2014. – Vol. 23(1). – P. 123–126.
416. Infectious mononucleosis with atypical manifestations accompanied by transient IgM antibody response for cytomegalovirus / J. Nishikawa, H. Funada, T. Miyazaki [et al.] // *J. Infect. Chemother.* – 2011. – Vol. 17, № 5. – P. 686– 688.
417. Inflammation in the middle ear of children with recurrent or chronic otitis media is associated with bacterial load / K. Stol, D.A. Diavatopoulos, K. Graamans [et al.] // *Pediatr. Infect. Dis J.* – 2012. – Vol. 31, №11. – P. 1128–1134.
418. Interleukin–1 receptor antagonist as an adjunct in the treatment of *Haemophilus*

- influenzae otitis media in the chinchilla / J.E. Kerschner, D.J.Beste, J.B. Lynch [et al.] // *Laryngoscope*. – 2000. – Vol. 110 №9. – P. 1457–1461.
419. Interleukin–8 and chemotactic activity of middle ear effusions / M. Storgaard, K. Larsen, S. Blegvad [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 1997. – Vol. 175, №2. – P. 474–477.
420. Isaacson, G. Diagnosis of pediatric cholesteatoma / G. Isaacson // *Pediatrics*. – 2007. – Vol. 120, №. 3. – P. 603–608.
421. Isolation and characterization of human beta–defensin–3, a novel human inducible peptide antibiotic / J. Harder, J. Bartels, E. Christophers [et. al.] // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 5707– 5713.
422. Ito, S. Suppressive effect of IgE soluble immune complex on neutrophils chemotaxis / S. Ito, K. Shinomiya, H. Mikawa // *Clin. Exp. Immunol.* – 1983. – Vol. 51, № 2. – P. 407– 412.
423. Iwasaki, A. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses / A. Iwasaki, R. Medzhitov // *Nat. Immunol.* – 2004. – Vol. 5(10). – P. 987-995.
424. Jerzsele, Á. Evaluating synergy between marbofloxacin and gentamicin in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from dogs with otitis externa / Á. Jerzsele, E. Pásztiné–Gere // *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* – 2015. – Vol. 62(1). – P. 45–55.
425. Kaddurah–Daouk, R. Metabolomics: a global biochemical approach to drug response and disease / R. Kaddurah–Daouk, B.S. Kristal, R.M. Weinshilboum // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* –2008. – Vol. 48. – P. 653–683.
426. Kaplan, E.L. The group A streptococcal upper respiratory tract carrier state an enigma / E.L. Kaplan // *J. Pediatr.* – 1980. – Vol. 97. – P. 337–345.
427. Kern, J.M. Molecular pathogenesis of chronic *Chlamydia pneumoniae* infection: a brief overview / J.M. Kern, V. Maass, M. Maass // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2009. – Vol. 15(1). – P. 36–41.
428. Kishimoto, T. Interleukin–6: discovery of a pleiotropic cytokine / T. Kishimoto // *Arthritis Res. Ther.* – 2006. – Vol. 8 Suppl 2. – S2.
429. Kopp, F. Lipopolysaccharide-binding protein is bound and internalized by host cells and colocalizes with LPS in the cytoplasm: Implications for a role of LBP in intracellular LPS-signaling / F. Kopp, S. Kupsch, A.B. Schromm // *Biochim. Biophys.*

Acta. – 2016. – Vol. 1863(4). – P. 660–672.

430. Lai, Y. AMPed up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense / Y. Lai, R.L. Gallo // Trends Immunol. – 2009. – Vol. 30(3). – P. 131–141.

431. Lankadurai, B.P. Environmental metabolomics: an emerging approach to study organism responses to environmental stressors / B.P. Lankadurai, E.G. Nagato, M.J. Simpson // Environ. Rev. – 2013. – Vol. 21 (3). – P. 180–205.

432. Lehrer, R.I. Defensins of vertebrate animals / R.I. Lehrer, T. Ganz // Curr. Opin. Immunol. – 2002. – Vol. 14. – P. 96–102.

433. Lehrer, R.I. Defensins: Antimicrobial and cytotoxic peptides of mammalian cells / R.I. Lehrer, A.K. Lichtenstein, T. Ganz // Annu. Rev. Immunol. – 1993. – Vol. 11. – P. 105–128.

434. Leigh, R. Genitourinary manifestations of Epstein–Barr virus infections / R. Leigh, P. Nyirjesy // Curr. Infect. Dis. Rep. – 2009. – Vol. 11, № 6. – P. 449–456.

435. Leung, D.Y. New insights into atopic dermatitis: role of skin barrier and immune dysregulation / D.Y. Leung // Allergol. Int. – 2013. – Vol. 62(2). – P. 151–161.

436. Levy, O. Antimicrobial proteins and peptides: anti-infective molecules of mammalian leukocytes / O. Levy // J. of Leukocyte Biology. – 2004. – Vol. 76. – P. 909–926.

437. Local reactions and IgE antibodies to pertussis toxin after acellular diphtheria–tetanus–pertussis immunization / K. Edelman, K. Malmstrom, Q. He [et al.] // Eur. J. Pediatr. – 1999. – Vol. 158. – P. 989–994.

438. Lourenço, C. Breath analysis in disease diagnosis: Methodological considerations and applications / C. Lourenço, C. Turner // Metabolites. – 2014. – № 4. – P. 465–498.

439. Lymphocyte subsets, immunoglobulin levels, complement activity CH50, and phagocytic peroxide production in 19 Iranian patients with first episode of bacterial meningitis / Z. Ahmadinejad, H. Bagherian, L. Atarord [et al.] // J. Microbiol. Immunol. Infect. – 2011. – Vol. 44(2). – P. 83–87.

440. Lysozyme levels in the nasal secretions of patients with perennial allergic rhinitis and recurrent sinusitis / V.C. Kalfa, S.L. Spector, T. Ganz [et al.] // Ann. Allergy

Asthma Immunol. – 2004. – Vol. 93, №3. – P. 288–292.

441. Maniglia, A.J. Adenotonsillectomy. A safe outpatient procedure / A.J. Maniglia, H. Kushner, L. Cozzi // Arch. Otolaryngol. – Head Neck Surg. – 1989. – Vol. 115. – P. 92–94.

442. Maxwell, K. Cytokine expression in otitis media with effusion. Tumor necrosis factor soluble receptor / K. Maxwell, G. Leonard, D.L. Kreutzer // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 1997. – Vol. 123, №9. – P. 984–988.

443. McKeown-Longo, P.J. Binding of plasma fibronectin to cell layers of human skin fibroblasts / P.J. McKeown-Longo, D.F. Mosher // J. Cell Biol. – 1983. – Vol. 97(2). – P. 466–472.

444. Mena Viveros, N. [Biofilms in otolaryngology] [Article in Spanish] / N. Mena Viveros // Acta Otorrinolaringol. Esp. – 2014. – Vol. 65, №1. – P. 47–52.

445. Metabolic profiling detects early effects of environmental and lifestyle exposure to cadmium in a human population / J. Ellis, T. Athersuch, L. Thomas [et al.] // BMC Med. – 2012. – Vol. 10 (1). – P. 61.

446. Metabolomics: moving towards personalized medicine / E. Baraldi, S. Carraro, G. Giordano [et al.] // Ital. J. Pediatr. – 2009. – Vol. 35(1). – P. 30.

447. Middle ear cholesteatoma: non–echo–planar diffusion–weighted MR imaging versus delayed gadolinium–enhanced T1–weighted MR imaging–value in detection / B. De Foer, J.P. Vercruysse, A. Bernaerts [et al.] // Radiology. – 2010. – Vol. 255. – P. 866–872.

448. Mills, R. Aetiology and pathology of otitis media with effusion in adult life / R. Mills, I. Hathorn // J. Laryngol. Otol. – 2016. – Vol. 130(5). – P. 418–424.

449. Modrzyński, M. [Allergic tonsillitis: myth or reality] / M. Modrzyński, H. Mazurek, E. Zawisza // Postepy Hig. Med. Dosw. (Online). – 2005. – Vol. 59. – P. 450–456.

450. Molecular biology of cholesteatoma / A. Maniu, O. Harabagiu, M. Perde Schrepler [et al.] // Rom. J. Morphol. Embryol. – 2014. – Vol. 55(1). – P. 7–13.

451. Morrison, G.M. A novel mouse beta defensin, Defb2, which is upregulated in the airways by lipopolysaccharide / G.M. Morrison, D.J. Davidson, J.R. Dorin // FEBS Lett. – 1999. – Vol. 442. – P. 112–116.
452. Mosher, D.F. Cross-linking of fibronectin to collagen by blood coagulation Factor XIIIa / D.F. Mosher, P.E. Schad // J. Clin. Invest. – 1979. – Vol. 64(3). – P. 781–787.
453. Mosher, D.F. Cross-linking of plasma and cellular fibronectin by plasma transglutaminase / D.F. Mosher // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1978. – Vol. 312. – P. 38–42.
454. Myeloperoxidase and interleukin-8 levels in chronic sinusitis / P. Demoly, L. Crampette, M. Mondain [et al.] // Clin. Exp. Allergy. – 1997. – Vol. 27, №6. – P. 672–675.
455. New method for diagnosing chronic rhinosinusitis based on an electronic nose / E.I. Mohamed, C.M. Harrison, C.C. Finltsen [et al.] // Otorrinolaringol. Ibero. – 2003. – Vol. 30. – №5. – P. 447–457.
456. Ni, H. Platelets in hemostasis and thrombosis: role of integrins and their ligands / H. Ni, J. Freedman // Transfus. Apher. Sci. – 2003. – Vol. 28(3). – P. 257–264.
457. Nicholson, J.K. Systems biology: Metabonomics / J.K. Nicholson, J.C. Lindon // Nature. – 2008. – Vol. 455(7216). – P. 1054–1056.
458. Nicolis, G. Self-organization in non-equilibrium systems / G. Nicolis, I. Prigogine. – New York: John. Wiley & Sons, 1977. – 491 p.
459. O'Connell, T.M. Recent advances in metabolomics in oncology / T.M. O'Connell // Bioanalysis. – 2012. – Vol. 4(4). – P. 431–451.
460. O'Leary, S. Postoperative bleeding after diathermy and dissection tonsillectomy / S. O'Leary, J. Vorrath // Laryngoscope. – 2005. – Vol. 115, №4. – P. 591–594.
461. Oropharyngeal shedding of Epstein-Barr virus in the absence of circulating B cells / S.E. Hoover, J. Kawada, W. Wilson [et al.] // J. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 198(3). – P. 318–23.
462. Ouellette, A.J. Paneth cell antimicrobial peptides and the biology of the mucosal barrier / A.J. Ouellette // Am. J. Physiol. – 1999. – Vol. 277. – P. G257–261.
463. Paap, C.M. Management of otitis media with effusion in young children / C.M.

Paap // *Ann. Pharmacother.* – 1996. – Vol. 30, №11. – P. 1291–1297.

464. Pawlikowska, M. [Human diseases caused by chlamydia and chlamydophila] M. Pawlikowska, W. Deptuła // *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)*. – 2007. – Vol. 27, №61. – P. 708–717.

465. Petterson, A. Ueber die bacteriziden leukocyten Stoffe und ihre Beziehungen / A. Petterson // *Immunitat. und Bacteriol. Parasitink.* – 1905. – Vol. 139. – P. 423–437.

466. Phillips, M. Increased pentane and carbon disulphide in the breath of patients with schizophrenia / M. Phillips, M. Sabas, J. Greenberg // *J. Clin. Pathol.* – 1993. – Vol. 46. – P. 861–864.

467. Phua, Y.S. Middle ear disease in children with cleft palate: Protocols for management / Y.S. Phua, L.J. Salkeld, T.M. de Chlain // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* – 2009. – Vol. 73, № 2. – P. 307–313.

468. Phylogenetic perspectives in innate immunity / J. Hoffman, F. Kafatos, C. Janeway [et al.] // *Science*. – 1999. – Vol. 284. – P. 1313–1318.

469. Physiology of the mouth and pharynx, Waldeyer's ring, taste and smell / M. Bogaerts, N. Deggouj, C. Huart // *B-ENT*. – 2012. – Vol. 8, Suppl 19. – P. 13–20/

470. Plasma fibronectin and associated variables in surgical intensive care patients / E. Rubli, S. Büssard, E. Frei [et al.] // *Ann. Surg.* – 1983. – Vol. 197(3). – P. 310–317.

471. Plasma fibronectin depletion enhances platelet aggregation and thrombus formation in mice lacking fibrinogen and von Willebrand factor / A. Reheman, H. Yang, G. Zhu [et al.] // *Blood*. – 2009. – Vol. 113, №8. – P. 1809–1817.

472. Plasma fibronectin supports hemostasis and regulates thrombosis / Y. Wang, A. Reheman, C.M. Spring [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2014. – Vol. 124, №10. – P. 4281–4293.

473. Plasma levels of fibronectin bearing the alternatively spliced EIIIB segment are increased after major trauma / J.H. Peters, G.A. Lored, G. Chen [et al.] // *J. Lab. Clin. Med.* – 2003. – Vol. 141. – P. 401–410.

474. Pospiech, L. Soluble L-selectin and interleukin-8 in otitis media with effusion / L. Pospiech, M. Jaworska, M. Kubacka // *Auris Nasus Larynx*. – 2000. – Vol. 27, №3. – P. 213–217.

475. Prats-Puig, A. α -Defensins and bacterial/permeability-increasing protein as new markers of childhood obesity / A. Prats-Puig, M. Gispert-Saüch, G. Carreras-Badosa // *Pediatr. Obes.* – 2016. – doi: 10.1111 / ijpo.12118.
476. Preoperative and postoperative cardiac and clinical findings of patients with adenotonsillar hypertrophy / K. Görür, O. Döven, M. Unal [et al.] // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* – 2001. – Vol. 59(1). – P. 41–46.
477. Prescott, S.L. Raised serum IgE associated with reduced responsiveness to DPT vaccination during infancy / S.L. Prescott, P.D. Sly, P.G. Holt // *Lancet.* – 1998. – Vol. 351, № 9114. – P. 1489.
478. Progress in the development of volatile exhaled breath signatures of lung cancer P.J. Mazzone, X.F. Wang, S. Lim [et. al.] // *Ann. Am. Thorac. Soc.* – 2015. – Vol. 12(5). – P. 752–757.
479. Prospects for clinical application of electronic-nose technology to early detection of Mycobacterium tuberculosis in culture and sputum / R. Fend, A.H. Kolk, C. Bessant [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – Vol. 44(6). – P. 2039–2045.
480. Protegrins: leukocyte antimicrobial peptides combine features of corticostatic defensins and tachyplesins / V.N. Kokryakov, S.S.L. Harwig., E.A. Panyutich [et al.] // *FEBS Lett.* – 1993. – Vol. 327, № 2. – P. 231–236.
481. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography / L. Pauling, A.B. Robinson, R. Teranishi [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 1971. – Vol. 68(10). – P. 2374–2376.
482. Recent advances in the research and development of human defensins / H. Chen, Z. Xu, L. Peng [et al.] // *Peptides.* – 2006. – Vol. 27. – P. 931–940.
483. Recurrent otitis media and tonsillitis: common disease predisposition / E. Kvestad, K.J. Kvaerner, E. Røysamb [et al.] // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* – 2006. – Vol. 70, № 9. – P. 1561–1568.
484. Review article: next generation diagnostic modalities in gastroenterology—gas phase volatile compound biomarker detection / R.P. Arasaradnam, J.A. Covington, C. Harmston [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2014. – Vol. 39(8). – P.780–789.
485. Röck, F. Electronic nose: current status and future trends / F. Röck, N. Barsan, U.

Weimar // Chem. Rev. – 2008. – Vol. 108(2). – P. 705–725.

486. Role of allergy in children with adenotonsillar hypertrophy / C.T. Karaca, S.Z. Toros, H. Noşeri [et al.] // J. Craniofac. Surg. – 2012. – Vol. 23(6). – e 611–613.

487. Role of Chlamydia pneumoniae in the pathogenesis of hypertrophy and adenoid tissue inflammation in children / A. Bielicka, B. Zielnik-Jurkiewicz, E. Podsiadły[et al.] // Otolaryngol. Pol. – 2016. – Vol. 70(5). – P. 7-12.

488. Role of the pro-inflammatory cytokines tumor necrosis factor– alpha, interleukin– 1 beta, interleukin– 6 and interleukin– 8 in the pathogenesis of the otitis media with effusion / M.G. Smirnova, S.L. Kiselev, N.V. Gnuchev [et al.] // Europ. Cytokine Network. – 2002. – Vol. 13, №2. – P. 161–172.

489. Ruben, R.J. Randomized controlled studies and the treatment of middle–ear effusions and tonsillar pharyngitis: How random are the studies and what are their limitations? / R.J. Ruben // Otolaryngol. – Head and Neck Surgery. – 2008. – Vol. 139, №3. – P. 333–339.

490. Rudack, C. Cytokines in nasal polypsis, acune and chronic sinusitis / C. Rudack, W. Stoll, C. Bachert // Am. J. Rhinol. – 1998. – Vol. 12, №6. – P. 383–388.

491. Rutkow, I.M. Ear, nose, and throat operations in the United States, 1979 to 1984. / I.M. Rutkow // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 1986. – Vol. 112. – P. 873–876.

492. Savage, B. Specific synergy of multiple substrate–receptor interactions in platelet thrombus formation under flow / B. Savage, F. Almus–Jacobs, Z.M. Ruggeri // Cell. – 1998. – Vol. 94(5). – P. 657–666.

493. Schumann, R.R. Old and new findings on lipopolysaccharide-binding protein: a soluble pattern-recognition molecule / R.R. Schumann // Biochem. Soc. Trans. 2011. – Vol. 39(4). – P. 989–993.

494. Schutte, B.C. β –defensins in lung host defense / B.C. Schutte, P.B. McCray // Annu. Rev. Physiol. – 2002. – Vol. 64. – P. 709–748.

495. Secretion of microbicidal alpha–defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria / T. Ayabe, D. P. Satchell, C.L. Wilson [et al.] // Nat. Immunol. – 2000. – Vol. 1. – P. 113–118.

496. Selective roles for Toll-like receptor (TLR)2 and TLR4 in the regulation of

- neutrophil activation and life span / I. Sabroe, L.R. Prince, E.C. Jones [et al.] // *J. of immunol.* 2003. – Vol. 170(10). – P. 5268–5275.
497. Selsted, M.E. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response / M.E. Selsted, A.J. Ouellette // *Nat. Immunol.* – 2005. – Vol. 6(6). – P. 551–557.
498. Semaan, M.T. The pathophysiology of cholesteatoma / M.T. Semaan, C.A. Megerian // *Otolaryngol. Clin. North. Am.* – 2006. – Vol. 39, №6. – P. 1143–1159.
499. Shirasu, M. The scent of disease: volatile organic compounds of the human body related to disease and disorder / M. Shirasu, K. Touhara // *J. Biochem.* – 2011. – Vol. 150(3). – P. 257–266.
500. Single exhaled breath metabolomic analysis identifies unique breathprint in patients with acute decompensated heart failure / M.A. Samara, W.H. Tang, F. Cikach Jr. [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2013. – Vol. 61(13). – P. 1463–1464.
501. Smirnova, M.G. Evidence of T-helper cell 2 cytokine regulation of chronic otitis media with effusion / M.G. Smirnova, J. P. Birchall, J. P. Pearson // *Acta Otolaryngol.* – 2005. – Vol. 125, №10. – P. 1043–1050.
502. Soldati, D. Knowledge about cholesteatoma, from the first description to the modern histopathology / D. Soldati, A. Mudry // *Otol. Neurotol.* – 2001. – Vol. 22, № 6. – P. 723–730.
503. Some considerations about acquired adult and pediatric cholesteatomas / C. Dornelles, S.S. da Costa, L. Meurer [et al.] // *Rev. Brasil. Otorrinolaringol.* – 2005. – Vol. 71, № 4. – P. 536–546.
504. Spatial organisation of microbiota in quiescent adenoiditis and tonsillitis / A. Swindski, O. Göktas, C. Bessler [et.al.] // *J. Clin. Pathol.* – 2007. – Vol. 60, №3. – P. 253–260.
505. Sullivan, B.M. Basophils: a nonredundant contributor to host immunity / B.M. Sullivan, R.M. Locksley // *Immunity.* – 2009. – Vol. 30(1). – P. 12–20.
506. The adenoid and adenoidectomy / J.R. Peter. In: Michael G, George G.B., Martin J.B. [et al.] editors. // *Scott–Brown's Otolaryngology.* – 7 th ed. – Vol. 1. – London: Hodder Arnold, 2008. – P. 1095–1101.
507. The cationic peptide LL-37 binds Mac-1 (CD11b / CD18) with a low

- dissociation rate and promotes phagocytosis / X. Zhang, G. Bajic, G.R. Andersen [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2016. – Vol. 1864(5). – P. 471–478.
508. The Epstein–Barr virus (EBV) in human pathology. II. Serologic profiles of EBV infections / J. Didier, M. Dalens, G. Chabanon [et al.] // *Biomedicine.* – 1978. – Vol. 28, №1. – P. 54–62.
509. The expression of the gene coding for the antibacterial peptide LL–37 is induced in human keratinocytes during inflammatory disorders / M. Frohm, B. Agerberth, G. Ahangari [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272(24). – P. 15258–15263.
510. The human antimicrobial and chemotactic peptides LL–37 and alphadefensins are expressed by specific lymphocyte and monocyte populations / B. Agerberth, J. Charo, J. Werr [et al.] // *Blood.* – 2000. – Vol. 96. – P. 3086–3093.
511. The incubation period of primary Epstein–Barr virus infection: viral dynamics and immunologic events / S.K. Dunmire, J.M. Grimm, D.O. Schmeling [et al.] // *PLoS Pathog.* – 2015. – Vol. 11(12). – e1005286.
512. The interaction of factors 8 and 9 / R.G. Macfarlane, R. Biggs, B.J. Ash [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 1964. – №10. – P. 530–541.
513. The protean manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infection in adults / H.W. Murray, H. Masur, L.B. Senterfit [et al.] // *Am. J. Med.* – 1975. – Vol. 58. – P. 229–242.
514. The role of biofilms in otolaryngologic infections: update 2007 / J.C. Post, N.L. Hiller, L. Nistico [et al.] // *Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2007. – Vol. 15 (5). – P. 347–351.
515. To, W.S. Plasma and cellular fibronectin: distinct and independent functions during tissue repair / W.S. To, K.S. Midwood // *Fibrogenesis Tissue Repair.* – 2011. – Vol. 4. – P. 21.
516. Tos, M. Prevalence and progression of sequel after secretory otitis / M. Tos, G. Hvid, S. Stangerup // *Ann. of Otol. Rhinol. Laryngol.* – 1990. – Vol. 99. – P. 36–38.
517. Tracheal antimicrobial peptide. a novel cysteine–rich peptide from mammalian tracheal mucosa: Peptide isolation and cloning of a cDNA / G. Diamond, M. Zasloff, H. Eck [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1991. – Vol. 88. – P. 3952–3956.

518. Triantafilov, M. Lipopolysaccharide recognition: CD14, TLRs and the LPS-activation cluster / M. Triantafilov, K. Triantafilov // Trends Immunol. – 2002. – Vol. 23. – P. 301–305.
519. Trinder, P. Determination of blood glucose using 4-amino phenazone as oxygen acceptor / P. Trinder // J. Clin. Pathol. – 1969. – Vol. 22. №2. – P. 246.
520. Tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β levels in recurrent and persistent otitis media with effusion / S. Yetiser, B. Satar, A. Gumusgun [et al.] // Otolaryngol. Head Neck. Surg. – 2002. – Vol. 126, №4. – P. 417–422.
521. Underhill, D. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection / D. Underhill, A. Ozinsky // Curr. Opin. Immunol. – 2002. – Vol. 1. – P. 103–110.
522. Utility of sepsis biomarkers and the infection probability score to discriminate sepsis and systemic inflammatory response syndrome in standard care patients / F. Ratzinger, M. Schuardt, K. Eichbichler [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8(12). – P. e82946.
523. Van der Greef, J. Symbiosis of chemometrics and metabolomics: past, present, and future / J. van der Greef, A.K. Smilde // J. Chemometrics. – 2005. – Vol. 19. – P. 376–386.
524. Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans / M. Phillips, J. Herrera, S. Krishnan // J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl. – 1999. – Vol. 729(1-2). – P. 75-88.
525. Vasselon, T. Toll receptors: a central element in innate immune responses / T. Vasselon, P.A. Detmers // Infect. Immun. – 2002. – Vol. 70. – P. 1033–1041.
526. Volatile Biomarkers. Non-Invasive Diagnosis in Physiology and Medicine / A. Amann, D. Smith. – Elsevier, 2013. – 600 p.
527. Volatile organic compounds as diagnostic biomarkers in gastrointestinal and liver diseases / C.S.J. Probert, I. Ahmed, T. Khalid [et al.] // J. Gastrointest. Liver Dis. – 2009. – Vol. 18. – P. 337–343.
528. Volatile organic compounds of lung cancer and possible biochemical pathways / M. Hakim, Y.Y. Broza, O. Barash [et al.] // Chem. Rev. – 2012. – Vol. 112(11). – P. 5949–5946.

529. Waites, K.B. New insights into the pathogenesis and detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections / K.B. Waites, M.F. Balish, T. P. Atkinson // *Future Microbiol.* – 2008. – Vol. 3(6). – P. 635–648.
530. Weiss, J. Bactericidal / permeability-increasing protein (BPI) and lipopolysaccharide-binding protein (LBP): Structure, function and regulation in host defence against gram-negative bacteria / J. Weiss // *Biochem. Soc. Trans.* – 2003. – Vol. 31. – P. 785–790.
531. Wilson, A.D. Advances in electronic-nose technologies developed for biomedical applications / A.D. Wilson, M. Baietto // *Sensors (Basel)*. – 2011. – Vol. 11(1). – P. 1105–1176.
532. Wilson, A.D. Advances in electronic-nose technologies for the detection of volatile biomarker metabolites in the human breath / A.D. Wilson // *Metabolites*. – 2015. – Vol. 5(1). – P. 140–163.
533. Wilson, M.H. Ultrastructural study of *Mycoplasma pneumoniae* in organ culture / M.H. Wilson, A.M. Collier // *J. Bacteriol.* – 1976. – Vol. 125. – P. 332–339.
534. Wilson, S.S. Antiviral mechanisms of human defensins / S.S. Wilson, M.E. Wiens, J.G. Smith // *J. Mol. Biol.* – 2013. – Vol. 425(24). – P. 4965–4980.
535. Witt, I. Minimalanforderungen zur Gewinnung von citratplasma für hämostaseologische analysen / I. Witt, H. Beeser, G. Müller-Berghaus // *Lab. Med.* – 1995. – Vol. 19. – P. 143–145.
536. Yang, D. Antimicrobial proteins act as "alarmins" in joint immune defense / D. Yang, J.J. Oppenheim // *Arthritis Rheum.* – 2004. – Vol. 50(11). – P. 3401–3403.
537. Yang, D. The role of mammalian antimicrobial peptides and proteins in awakening of innate host defenses and adaptive immunity / D. Yang, O. Chertov, J.J. Oppenheim // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2001. – Vol. 58. №7. – P. 978–989.
538. Yellon, R.F. Characterization of cytokines present in middle ear effusions / R.F. Yellon, G. Leonard, P. T. Marucha // *Laryngoscope*. – 1991. – Vol. 101, №2. – P. 165–169.
539. Young, L.S. Epstein-Barr virus and oncogenesis from latent genes to tumours / L.S. Young // *Oncogene*. – 2003. – № 22. – P. 5108–5121.

540. Young, L.S. Epstein–Barr virus: 40 years on / L.S. Young, A.B. Rickinson // Nat. Rev. Cancer. – 2004. – Vol. 4, № 10. – P. 757–768.
541. Zerlauth, G. Plasma fibronectin as a marker for cancer and other diseases / G. Zerlauth, G. Wolf // Am. J. Med. – 1984. – Vol. 77, №4. – P. 685–689.
542. Zeya, H.I. Antibacterial and enzymatic basic protein from leukocyte lysosomes: separation and identification / H.I. Zeya, J.K. Spitznagel // Science. – 1963. – Vol. 142. – P. 1085–1087.