

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

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Санкт-Петербург – 2017

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научные консультанты:**

**Цыган Василий Николаевич** – доктор медицинских наук, профессор

**Янов Юрий Константинович** – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Долгих Владимир Терентьевич** – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии.

**Карпищенко Сергей Анатольевич** – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой оториноларингологии с клиникой

**Николаев Валентин Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой патологической физиологии.

**Ведущая организация:** ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 15.05.2018 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 215.002.03 при ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ по адресу: Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке и на официальном сайте ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ.

Автореферат разослан .02.2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета:

доктор медицинских наук, профессор



Дергунов

Анатолий Владимирович

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **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 обследовании больных хроническим тонзиллитом применяется исследование иммунологической функции небных миндалин по методу 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 превалируют 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 хламидофилезной 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 хламидофилезной 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 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , 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, ver. 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, из них 17 – 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.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **1. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Протоколы исследования были разработаны в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. И «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 226, одобрены этическим комитетом СПб НИИ ЛОР.

Настоящая научная работа содержит пять разделов, которые включают сведения, полученные в ходе клинического обследования больных и изучения наиболее информативных патогенетических показателей при воспалительных заболеваниях ЛОР-органов в разных возрастных группах. Всего в исследования включено 687 больных (290 взрослых, 397 детей) и 97 человек (87 взрослых, 10 детей) контрольных групп.

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%), не имеющих воспалительных и онкологических заболеваний верхних и нижних дыхательных путей и ЖКТ, в возрасте от 16 до 52 лет. Отбор больных проводился из числа пациентов, обратившихся в СПб НИИ ЛОР. Группу контроля численностью 27 человек составили сотрудники института и пациенты отделения голосовых и речевых расстройств, в возрасте от 20 до 45 лет (из них 17 мужчин и 10 женщин). Лабораторные исследования включали: клинические анализы крови и мочи, определение в крови СРБ, РФ, АСЛ-О, оценка иммунологической функции небных миндалин [Попов Е.Л., Пущина П.Н. 1982, 1987] и метаболомный анализ выдыхаемого воздуха с использованием анализатора «Мультисенс-5», снабженного 5 резистивными полупроводниковыми сенсорами, чувствительными

к различным видам летучих соединений.

В целях получения репрезентативных данных метаболомного анализа выдыхаемого воздуха из групп обследуемых были исключены лица с патологией желудочно-кишечного тракта, нижних дыхательных путей, онкологические заболевания, воспалительные заболевания 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).

В разделе, посвященном изучению липидного обмена и морфологическому анализу твердой фазы региональных внешних секретов у взрослых больных хроническим гнойным средним отитом (ХГСО), проведено клинико-лабораторное обследование 85 пациентов, обоего пола – 39 мужчин (46%) и 46 женщин (54%), в возрасте от 16 до 62 лет. Отбор больных проводился из числа пациентов, обратившихся в СПб НИИ ЛОР. В контрольную группу вошли 28 добровольцев, обоего пола – 17 мужчин (61%) и 11 женщин (39%), в возрасте от 16 до 35 лет, из числа пациентов отделения голосовых и речевых расстройств, не имеющих хронических воспалительных заболеваний ЛОР-органов. Лабораторные исследования включали: анализ липидного спектра крови и региональных внешних секретов (слюна, отделяемое из слуховой трубы), морфологическое исследование региональных внешних секретов методами клиновидной и краевой дегидратации [Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., 2001].

В исследовании, посвященном изучению показателей системы иммунитета при бактериальном наружном диффузном отите (БНДО) у взрослых, проведено клинико-лабораторное обследование 100 больных, обоего пола – 55 мужчин (55%) и 45 женщин (45%), в возрасте от 18 до 65 лет. Отбор больных проводился из числа пациентов ЛОР-отделения СПб ГБУЗ «Городская Покровская больница». 32 добровольца, не имеющие воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей, обоего пола – 21 мужчина (66%) и 11 женщин (34%), в возрасте от 18 до 52 лет составили контрольную группу. Лабораторные исследования включали: клинический анализ крови, бактериологическое исследование отделяемого из наружного слухового прохода, определение фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов крови, определение в крови острофазовых белков, антимикробных белков и пептидов, цитокинов и общих иммуноглобулинов классов А, М, G, Е.

В разделе, посвященном изучению латентных инфекций у детей при экссудативном среднем отите на фоне хронической патологии лимфоэпителиального глоточного кольца, проведено клиническое и лабораторное обследование 176 пациентов с верифицированным диагнозом «хронический лимфопролиферативный синдром, осложненный экссудативным средним отитом», обоего пола – 106 мальчиков (60%) и 70 девочек (40%), в возрасте от 2 до 7 лет. Отбор больных проводился из числа пациентов, обратившихся в СПб НИИ ЛОР. Лабораторные исследования включали: клинический анализ крови, определение в крови и слюне маркеров ВЭБ-, ЦМВ-, микоплазменной и хламидофилезной инфекций, определение цитокинов и клеточного состава в смывах из полости

среднего уха.

В исследовании, посвященном изучению влияния операционной травмы и хронической персистирующей герпесвирусной инфекции на систему гемостаза у детей с патологией лимфоэпителиального глоточного кольца, проведено клиническое и лабораторное обследование 166 пациентов, обоего пола – 92 мальчика (59,4%) и 63 девочки (40,6%), в возрасте от 2 до 14 лет. Больные были отобраны из числа поступивших в СПб НИИ ЛОР для проведения хирургического вмешательства на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца. Группу контроля численностью 10 детей (4 мальчика и 6 девочек), в возрасте от 3 до 14 лет, составили пациенты отделения голосовых и речевых расстройств, не имеющие воспалительных заболеваний ЛОР-органов. Лабораторные исследования включали: определение в крови маркеров ВЭБ-, ЦМВ- и БГСА-инфекций, оценка состояния системы гемостаза (тромбоцитарный гемостаз, интегральные показатели внешнего и внутреннего путей свертывания крови, плазменный фибронектин), биохимические анализы крови.

Сводные данные о клинических лабораторных исследованиях, выполненных в настоящей работе в целом, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Сводные данные о научных исследованиях, выполненных в диссертационной работе

Разделы диссертации, виды исследований	Количество исследований	
	больные	группы контроля
<b>Глава 3</b>		
Клинический анализ крови	56	27
Общий анализ мочи	56	27
С-реактивный белок	105	27
Антистрептолизин-О	105	27
Ревматоидный фактор	105	27
Исследование иммунологической функции небных миндалин	87	26
Исследование бактериальной микрофлоры небных миндалин	126	27
Метаболомный анализ выдыхаемого воздуха с помощью технологии «электронный нос»	210	27
<b>Всего исследований в главе 3</b>	<b>850</b>	<b>215</b>
<b>Глава 4</b>		
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

Продолжение таблицы 1.

Определение триглицеридов в слюне	41	16
Морфологическое исследование структур твердой фазы слюны методом клиновидной дегидратации	85	28
Морфологическое исследование структур твердой фазы слюны методом краевой дегидратации	85	28
Морфологическое исследование структур твердой фазы смывов из устья слуховой трубы методом клиновидной дегидратации	85	28
Морфологическое исследование структур твердой фазы смывов из устья слуховой трубы методом краевой дегидратации	85	28
Гистологическое исследование операционного материала	85	0
<b>Всего исследований в главе 4</b>	<b>656</b>	<b>172</b>
<b>Глава 5</b>		
Микробиологические исследования	200	0
Определение лекарственной чувствительности патогенных бактерий	44	0
Клинический анализ 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 $\alpha$ -дефенсинов (HNP 1-3) в плазме венозной крови	200	32
Определение $\beta$ -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
Определение IL-1 $\beta$ в венозной крови	200	32
Определение IL-6 в венозной крови	200	32
Определение TNF- $\alpha$ 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
<b>Всего исследований в главе 5</b>	<b>3844</b>	<b>512</b>

Продолжение таблицы 1.

<b>Глава 6</b>		
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 Е 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 $\beta$ , IL-1 га 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
<b>Всего исследований в главе 6</b>	<b>5343</b>	<b>0</b>
<b>Глава 7</b>		
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
% протромбина по Квику	290	0
Содержание фибриногена в крови	290	0
Содержание фибронектина в крови	290	10
<b>Всего исследований в главе 7</b>	<b>2652</b>	<b>70</b>
<b>ИТОГО исследований в диссертации</b>	<b>14 314</b>	

**Статистическая обработка** полученных результатов включала расчет 95% доверительных интервалов для абсолютных и относительных значений признаков, проверку статистических гипотез с помощью параметрических и

непараметрических критериев (Стьюдента,  $\chi$ -квадрат). В качестве программного обеспечения статистического анализа использованы «Statistica» (for Windows) и Exel (Microsoft Office). Количественные значения изученных показателей для наглядности представлены в виде диаграмм «Box & Whisker Plot» с отображением средних значений, ошибки средних и стандартного отклонения.

## **2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **2.1. Метаболомный анализ выдыхаемого воздуха у взрослых больных хроническим тонзиллитом**

#### **2.1.1. Результаты традиционных лабораторных исследований**

Результаты клинического анализа крови и общего анализа мочи показали, что в группах больных как с компенсированной (ХКТ), так и с декомпенсированной формой хронического тонзиллита (ХДТ), значения параметров не выходили за пределы референсных диапазонов. Иммунологические исследования крови показали, что только у больных с ХКТ выявлены повышенные уровни СРБ (10,8%), ревматоидный фактор – только у пациентов группы ХДТ (2,5%). Повышенные уровни АСЛ-О выявлены в обеих группах, но у больных с ХДТ это было статистически значимо чаще (40%), чем у больных с ХКТ (15,4%) ( $p < 0,05$ ).

В обеих группах исследования (ХКТ и ХДТ) и контрольной группе выявлены варианты повышенной, пониженной и нормальной функциональной активности небных миндалин по Е.Л. Попову и П.Н. Пущиной (1982, 1987), причем в контрольной группе в равных долях.

Результаты бактериологических исследований содержимого лакун небных миндалин в группах больных и контрольной группе показали различия выявляемости условно-патогенной (УПМ) и резидентной микрофлоры и уровней общего бактериального обсеменения. При этом в контрольной группе УПМ была представлена только золотистым стафилококком, а у больных помимо несколько более высокой частоты высеваемости *Staphylococcus aureus* (46,7% против 37,0% в контрольной группе) в малой части случаев были обнаружены бета-гемолитический стрептококк группы А (3,8%) и клебсиелла (2,9%). Характер бактериальной микрофлоры у больных ХКТ и ХДТ не имел достоверных различий.

Критический анализ традиционных методов показал, что результаты их применения не отражают наличие и степень развития патологических процессов при хроническом тонзиллите, не позволяют достоверно дифференцировать формы заболевания и отличать больных от здоровых людей. Нами был предложен метод метаболомного анализа выдыхаемого воздуха, показывающий состояние метаболизма тканей в очаге хронического воспаления и отличающийся экспрессностью, неинвазивностью и отсутствием необходимости затрат на реагенты.



### 2.1.2. Результаты метаболомного анализа выдыхаемого воздуха у больных с различными формами хронического тонзиллита

Метаболомный анализ выдыхаемого воздуха с использованием анализатора «Мультисенс-5» показал у больных ХКТ более высокие ( $p < 0,05$ ) значения летучих метаболитов по сравнению с контрольной группой по уровням алканов, летучих жирных кислот, спиртов, аммиака и ацетона (рисунок 1).

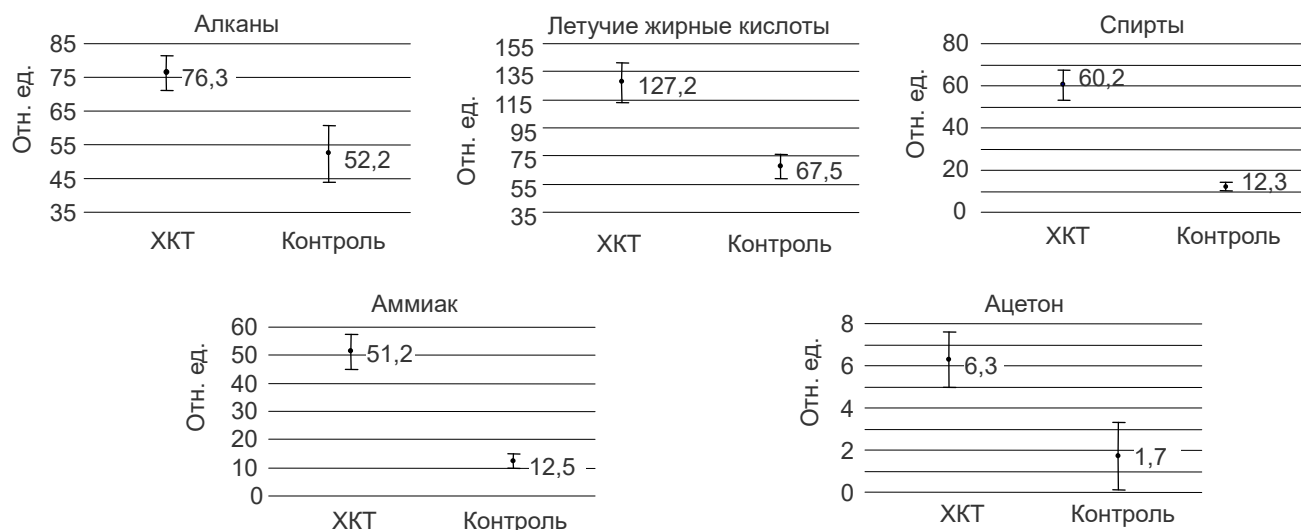


Рисунок 1 – Уровни летучих веществ в выдыхаемом воздухе больных хроническим компенсированным тонзиллитом (ХКТ) и в контрольной группе.

У больных ХДТ в выдыхаемом воздухе также выявлены более высокие уровни газообразных метаболитов по сравнению с контрольной группой. Статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) определены по содержанию летучих жирных кислот, спиртов и аммиака (рисунок 2).

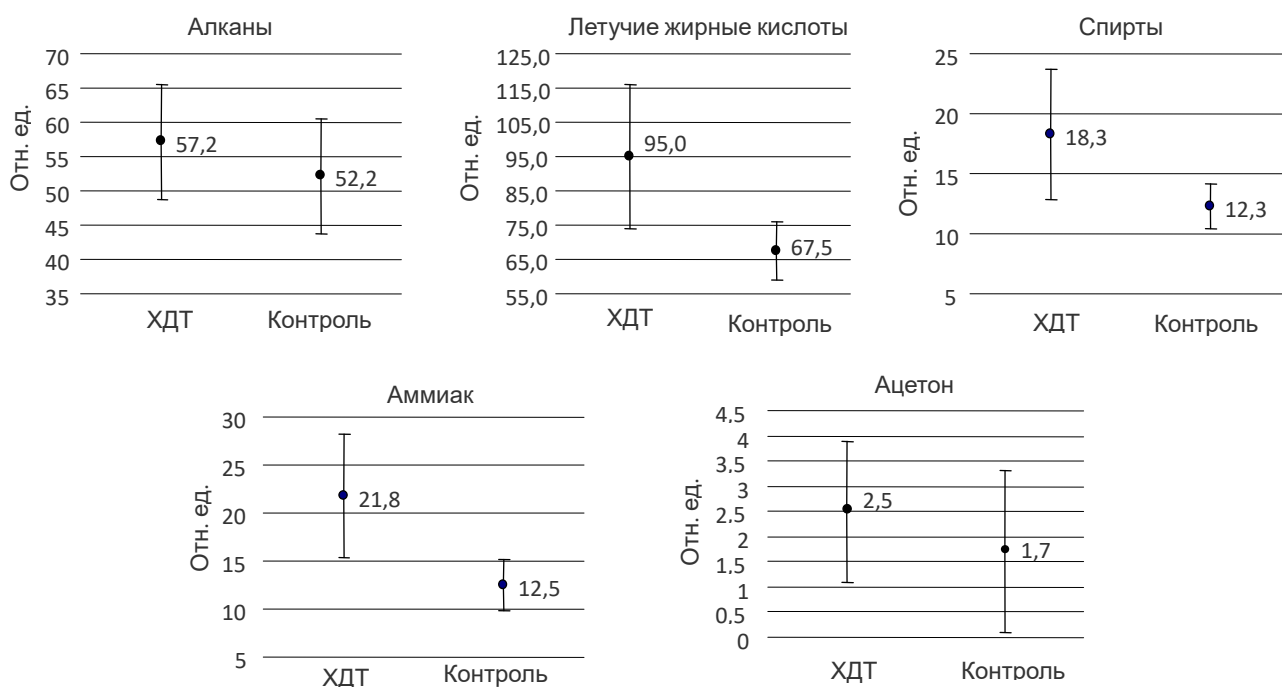


Рисунок 2 – Уровни летучих веществ в выдыхаемом воздухе больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом (ХДТ) и в контрольной группе.

Средние значения сигналов сенсоров в группе больных ХКТ превышают таковые в группе ХДТ (рисунок 3). Между группами больных ХКТ и ХДТ выявлены достоверные различия по уровням алканов, спиртов, аммиака и ацетона ( $p < 0,05$ ).

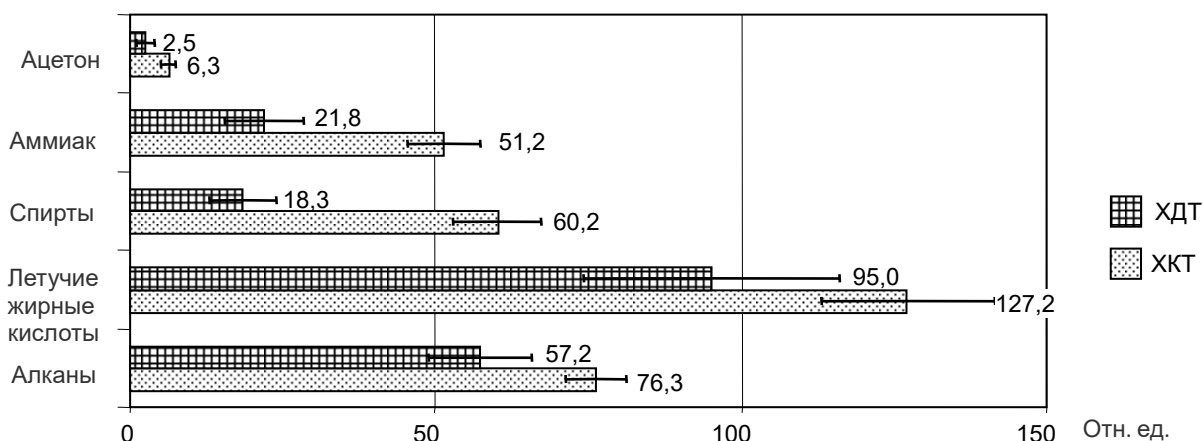


Рисунок 3 – Уровни летучих веществ в выдыхаемом воздухе больных хроническим тонзиллитом компенсированной и декомпенсированной формы.

Эти результаты свидетельствуют о повышенном содержании изученных летучих метаболитов в выдыхаемом воздухе у больных хроническим тонзиллитом. Причем при компенсированной форме заболевания получены более высокие значения, чем при декомпенсированной, что демонстрирует пригодность метода метаболомного анализа выдыхаемого воздуха для дифференциальной диагностики форм этого заболевания.

### 2.1.3. Динамика спектра летучих соединений в выдыхаемом воздухе у больных хроническим тонзиллитом в результате лечения

С целью определения, насколько характерный спектр летучих соединений в выдыхаемом воздухе у больных хроническим тонзиллитом обусловлен именно патологией небных миндалин, проведен повторный метаболомный анализ выдыхаемого воздуха у больных хроническим тонзиллитом после лечения (рисунки 4 и 5).

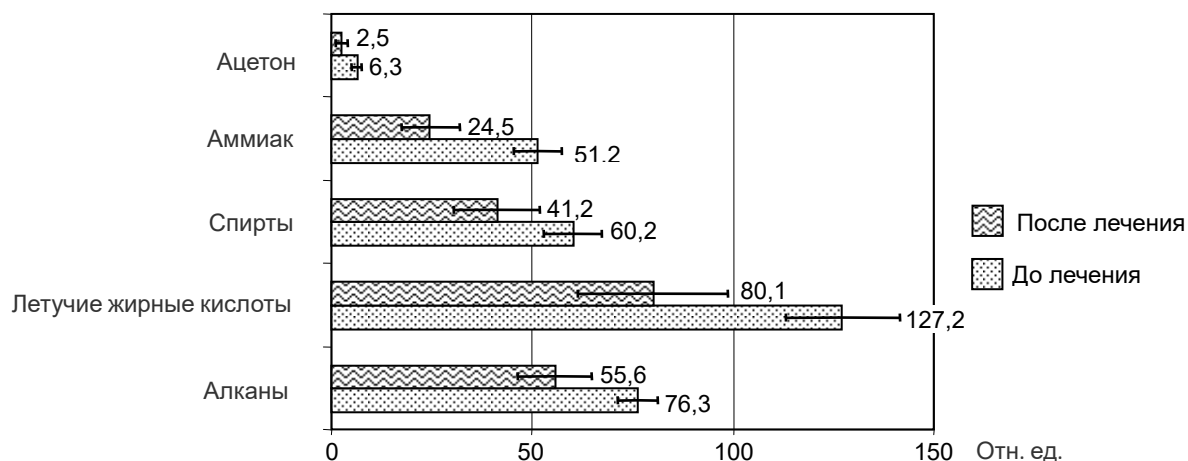


Рисунок 4 – Уровни летучих веществ в выдыхаемом воздухе больных с компенсированной формой хронического тонзиллита в динамике лечения.

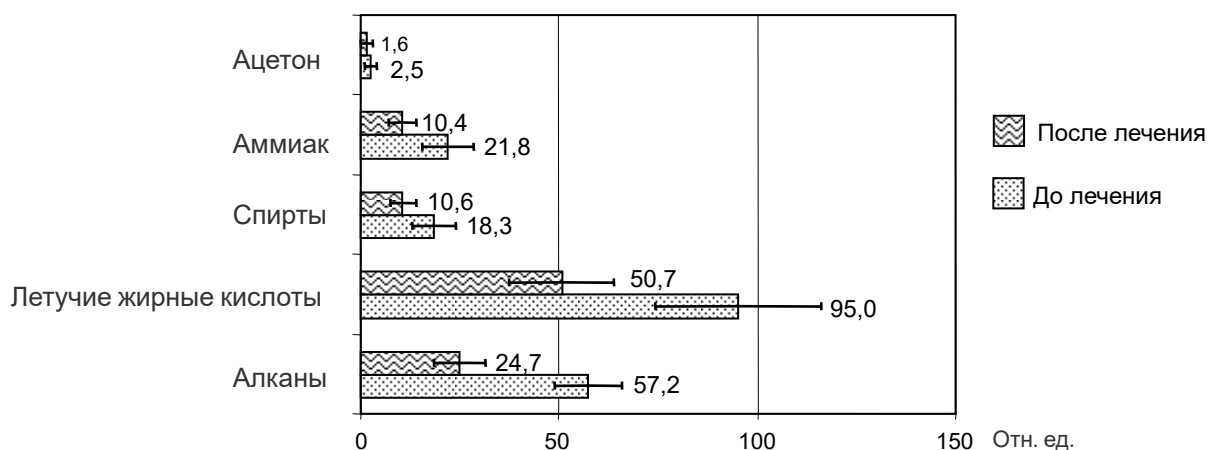


Рисунок 5 – Уровни летучих веществ в выдыхаемом воздухе больных с декомпенсированной формой хронического тонзиллита до и после оперативного лечения.

У больных ХКТ в результате консервативного лечения (через 2 нед. после окончания курса терапии) значения содержания всех газообразных метаболитов статистически значимо уменьшились и приблизились к значениям, характерным для контрольной группы людей. У больных ХДТ через 1 мес после тонзиллэктомии также произошло снижение исходных уровней изученных метаболитов, но достоверным оно было для сенсоров, чувствительных к алканам, летучим жирным кислотам и аммиаку ( $p < 0,05$ ).

Полученные данные указывают на то, что именно патологические процессы хронического воспаления небных миндалин определяют характер спектра летучих метаболитов в выдыхаемом воздухе, который позволяет отличать больных хроническим тонзиллитом от здоровых.

## 2.2. Характеристика липидного обмена и морфологической картины структур твердой фазы региональных внешних секретов у взрослых больных хроническим гнойным средним отитом

### 2.2.1. Результаты изучения липидного обмена

Результаты биохимических анализов крови показали, что частота выявления повышенных уровней общего холестерина и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) у больных ХГСО с мезотимпанитом без холестеатомы оказалась выше, чем у пациентов с эптитимпанитом и холестеатомой. Статистически значимое снижение липопротеидов высокой плотности ( $\alpha$ -холестерина) выявлено у всех больных вне зависимости от наличия холестеатомы.

Определение липидов в региональных внешних секретах (слюна, отделяемое из слуховой трубы) показало статистически значимо более низкий уровень содержания холестерина у больных ХГСО с эптитимпанитом и холестеатомой по сравнению как с больными с мезотимпанитом, так и с группой контроля. Полученные данные, как показали гистологические исследования операционного материала из барабанной полости, обусловлены 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.

### 2.2.2. Результаты изучения морфологической картины твердой фазы региональных внешних секретов

Изучение морфологической картины препаратов слюны больных хроническим гнойным средним отитом в трех пробах [Самбулов В.И. и соавт., 1999] для диагностики холестеатомы среднего уха показало, что чувствительность этого метода составляет 77% при специфичности – 96% (рисунок 6). Эти данные соответствуют результатам, представленным в работе В.И. Самбулова (2003), посвященной диагностике холестеатомы у детей.

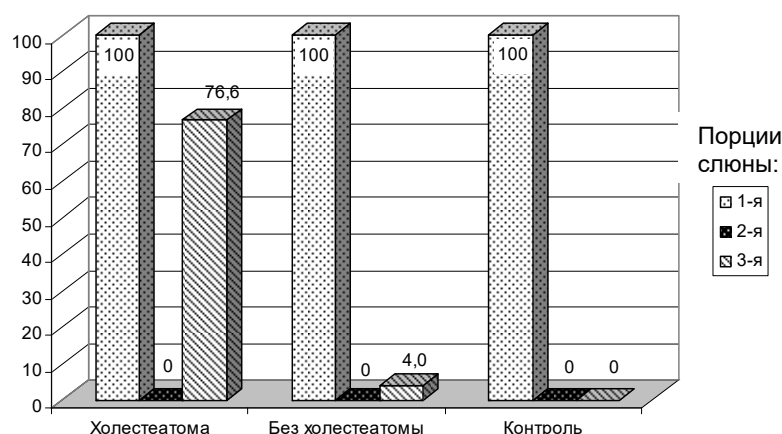


Рисунок 6 – Частота выявления трехлучевых трещин в препаратах слюны методом клиновидной дегидратации.

При изучении препаратов биологического материала, полученного из слуховой трубы (патент на изобретение RUS 2315302 14.03.2006), методом клиновидной дегидратации было выявлено три варианта морфологической картины с высоким, средним и низким содержанием органических веществ с различной частотой встречаемости в группах исследования и контроля

При использовании высокого и среднего уровней содержания органических веществ в качестве признаков холестеатомы среднего уха чувствительность метода составляет 90,9%, а специфичность – 60,1% (рисунок 7).

Результаты клинического обследования больных хроническим гнойным средним отитом (ХГСО) показали, что по жалобам и анамнестическим данным, а также по результатам акуметрического и аудиологического исследований выявить наличие холестеатомы невозможно. Чувствительность компьютерной томографии для идентификации холестеатомы по результатам собственного исследования составила 71%, специфичность – 55%, что соответствует данным литературы [Дмитриев Н.С. и соавт., 2001; Егоров Л.В. и соавт., 2004].

Таким образом, морфологический анализ твердой фазы региональных секретов методом клиновидной дегидратации показал более высокие значения чувствительности и специфичности для диагностики холестеатомы барабанной полости у больных ХГСО.

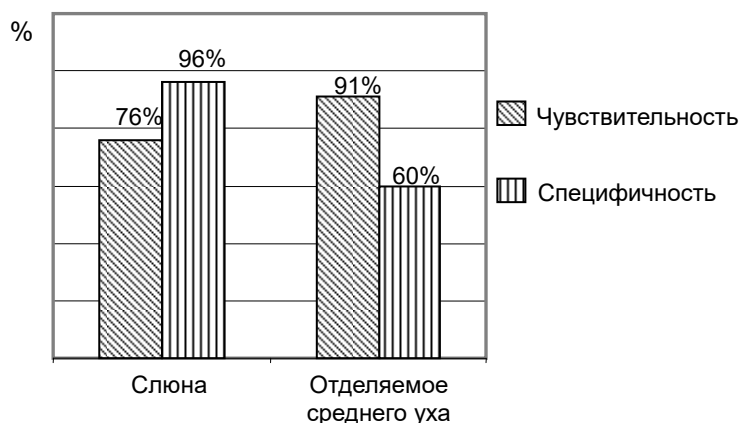


Рисунок 7 – Значения чувствительности и специфичности метода клиновидной дегидратации для диагностики холестеатомы при использовании образцов слюны биологического материала, полученного из слуховой трубы.

Более высокое значение чувствительности и низкое значение специфичности метода клиновидной дегидратации при исследовании отделяемого среднего уха позволяет использовать его для скрининговой диагностики холестеатомы, а более высокое значение специфичности метода при анализе трех порций слюны – для референтного этапа.

В итоге результаты проведенных исследований позволяют констатировать, что морфологический анализ твердой фазы региональных внешних секретов (слюна и отделяемое среднего уха), является информативным дополнительным методом лабораторной диагностики холестеатомы среднего уха при хроническом гнойном среднем отите.

### **2.3. Патофизиологические изменения системы иммунитета при бактериальном наружном диффузном отите (БНДО) у взрослых больных**

Обследованы больные БНДО, разделенные на три группы в зависимости от тяжести клинической картины заболевания и вида терапии, и люди, не имевшие воспалительных заболеваний и составившие контрольную группу. Больным первой группы (32 чел.) была назначена традиционная комплексная терапия, включающая антибиотикотерапию и обработку наружного слухового прохода антисептиком. 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, поскольку выполнение местной аутогемотерапии позволяло в короткие

сроки купировать оталгию, и отягощенным анамнезом. Группа 3 также характеризовалась значительно большей частью больных с умеренной и интенсивной степенью оталгии по сравнению с группой 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.

### **2.3.1. Бактериологический пейзаж патологического очага у больных БНДО**

Первичные микробиологические исследования показали у всех больных бактериальное присутствие в очаге воспаления, представленное в большей части случаев *Pseudomonas aeruginosa* (69%) и *Staphylococcus aureus* (26%). Полученные данные совпадают с некоторыми литературными данными о повышении в последнее время выявления синегнойной палочки и снижении высевания 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.

После лечения больных БНДО частота высева патогенной микрофлоры, в т.ч. синегнойной палочки, значительно снизился. В группах с более выраженной клинической картиной заболевания обнаружено появление чувствительности *Pseudomonas aeruginosa* к гентамицину и левомицетину. Именно у этих больных наблюдалось повышение продукции антимикробных пептидов  $\beta$ -дефенсина и кателицидина LL-37 в крови. Полученные данные соответствуют данным литературы о воздействии антимикробных белков и пептидов на изменение лекарственной чувствительности синегнойной палочки, которое было выявлено при других видах патологии [Кокряков В.Н., 2006].

### **2.3.2. Результаты клинических анализов крови у больных БНДО**

В клиническом анализе крови в группах исследования обнаружены лейкоцитоз и повышение СОЭ, уровни которых статистически значимо не различались между группами. К новым данным, не описанным ранее в литературе, относилось выявление повышенного процентного и абсолютного содержания базофилов в крови больных БНДО во всех группах до  $1,4 \pm 0,24\%$  и  $0,16 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$  против максимальных референсных значений  $0,5\%$  и  $0,065 \times 10^9/\text{л}$ . Этот феномен объясняется важной ролью базофилов не только в патогенезе аллергии и в защитных реакциях организма на инвазии, 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].

На фоне проводимого лечения и положительной динамики клинической картины заболевания у больных БНДО с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию или фитотерапию, произошла нормализация всех ранее повышенных показателей за исключением базофилов, уровень которых снизился, но не достиг референсного диапазона. У больных с менее выраженной клинической картиной заболевания, получавших традиционное лечение, остались повышенными средние значения содержания в крови лейкоцитов и СОЭ.

### 2.3.3. Фагоцитарная активность нейтрофилов крови у больных БНДО

До начала лечения во всех группах больных БНДО выявлено статистически значимое угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов крови: фагоцитарный показатель составил  $40,91 \pm 11,04\%$ , фагоцитарное число  $2,83 \pm 1,09$  Ед. против  $77,94 \pm 12,64\%$  и  $6,20 \pm 1,15$  Ед. в контрольной группе (референсные значения 65 – 95% и 5 – 10 Ед. соответственно) (рисунок 8).

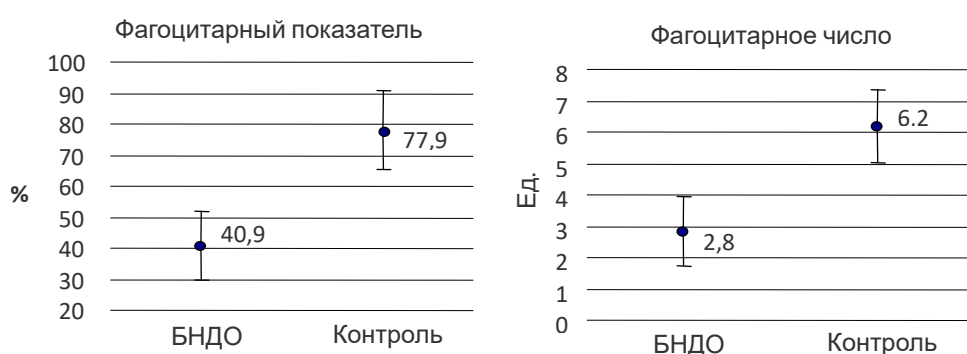


Рисунок 8 – Угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов крови при БНДО.

Наибольший дефицит фагоцитарной активности наблюдался в группе больных, которая отличалась наименьшей частотой повышения температуры тела, что также свидетельствует о снижении общей иммунологической реактивности организма. В результате лечения произошла нормализация фагоцитарной активности нейтрофилов у значительно большей части пациентов, относящихся к группам с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию или фитотерапию.

### 2.3.4. Острофазовые белки у больных БНДО

При поступлении на стационарное лечение повышенный уровень СРБ выявлен у большинства больных БНДО (87%). В результате лечения во всех группах исследования прослеживается статистически значимое снижение уровней СРБ в крови до нормальных. При этом динамика СРБ в группах с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию или фитотерапию, отличается статистически значимо более существенным снижением этого показателя (рисунок 9).

Сопоставление результатов определения С-реактивного белка и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови выявило некоторое несоответствие полученных данных одной из функций СРБ. Так, например, установлено, что связывание СРБ с бактериями и мембранами иммунокомпетентных клеток

приводит к активации фагоцитоза [Васильев А.Г., Чурилов Л.П., 2006]. По собственным данным при бактериальных наружных диффузных отитах, наоборот, повышение СРБ в крови сопровождается снижением фагоцитарной активности нейтрофилов крови.

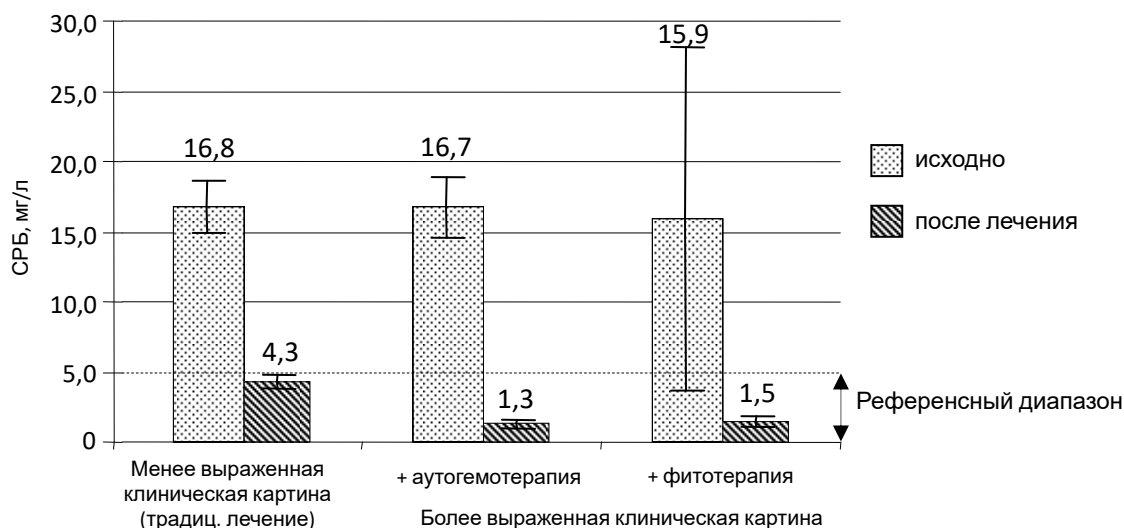


Рисунок 9 – Исходные уровни СРБ и их динамика в результате лечения в группах больных БНДО.

Можно предположить, что при этой патологии формируются индуцированные нарушения фагоцитарной активности нейтрофилов, при которых ее физиологическая стимуляция 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].

Для определения некоторых показателей использовалась не только венозная, но и капиллярная кровь, взятая из места, максимально приближенного к патологическому очагу, – из мочки больного уха. Во всех группах исследования до лечения выявлено достоверное повышение содержания другого острофазового белка LBP в венозной и капиллярной (из мочки больного уха) крови, но только у больных с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию или фитотерапию. В группе больных с менее выраженной клинической картиной заболевания исходно нормальный уровень LBP в результате традиционного лечения достоверных изменений не претерпел (рисунок 10).

В группах с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию или фитотерапию, уровень LBP снизился почти до уровня контрольной группы. Динамика уровней LBP в венозной и капиллярной крови, взятой из мочки больного уха, была идентичной.

Разница в исходных уровнях белков острой фазы у больных БНДО указывает на большую чувствительность теста СРБ для определения



воспалительной реакции, но повышение уровня LBP является признаком более тяжелого клинического течения заболевания. Похожие результаты, свидетельствующие о лучшей диагностической эффективности LBP по сравнению с СРБ и уровнем лейкоцитов, были у больных с сепсисом [Chen K.F. et al., 2016; Ratzinger F. et al., 2013], но при БНДО эти данные получены впервые.



Рисунок 10 – Исходные уровни LBP и их динамика в результате лечения в группах больных БНДО.

### 2.3.5. Антимикробные белки и пептиды в крови у больных БНДО

При первичном обследовании во всех группах больных БНДО выявлены повышенные уровни  $\alpha$ -дефенсинов: от  $1067,86 \pm 309,6$  нг/мл до  $1799,15 \pm 29,03$  нг/мл против  $185,00 \pm 28,8$  нг/мл в контрольной группе. Определение  $\beta$ -дефенсина (hBD-2) также показало увеличение его средних значений у всех больных БНДО, но достоверным характер различий был только в группах больных с более выраженной клинической картиной заболевания – до  $2,98 \pm 1,25$  нг/мл против  $0,66 \pm 0,08$  нг/мл в контрольной группе.

На фоне проведенного лечения в группе с менее выраженной клинической картиной заболевания (традиционная терапия) уровни  $\alpha$ - и  $\beta$ -дефенсинов достоверно увеличились: от  $1067,86 \pm 309,6$  нг/мл до  $1636,03 \pm 410,98$  нг/мл и от  $1,35 \pm 0,29$  нг/мл до  $3,26 \pm 1,33$  нг/мл соответственно. В группах с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию или фитотерапию, напротив, наблюдалось статистически значимое понижение средних значений обоих дефенсинов. Выявленная разнонаправленность динамики дефенсинов в крови в процессе лечения больных БНДО была обусловлена разным исходным состоянием системы врожденного иммунитета и разной степенью элиминации патогенов из очага воспаления. Так, снижение высеваемости патогенных бактерий сопровождалось снижением в крови дефенсинов и наоборот.

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 достоверным ( $p > 0,05$ ) (рисунок 11).

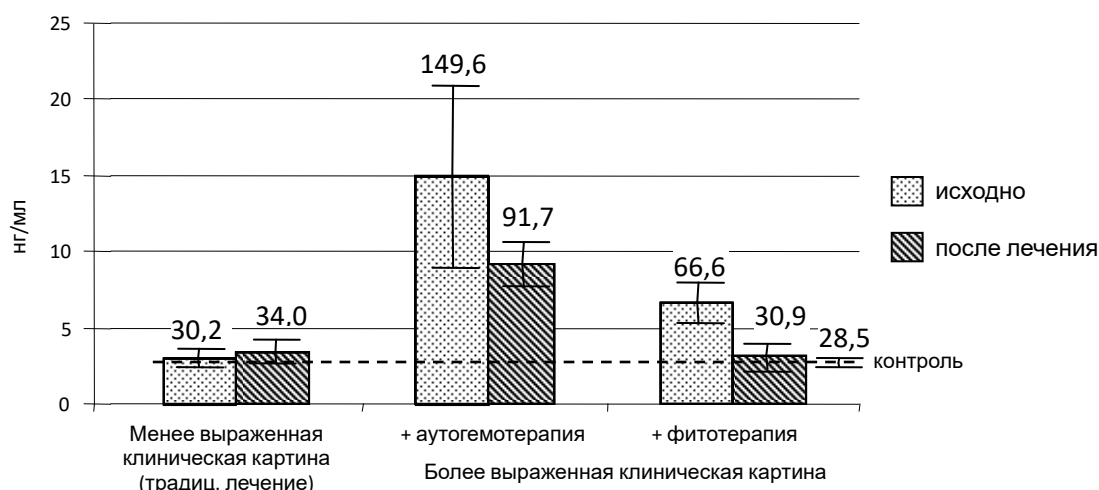


Рисунок 11 – Исходные уровни антимикробного белка LL-37 в крови и их динамика в результате лечения в группах больных БНДО.

На фоне лечения уровень LL-37 в крови в этой группе несколько увеличился, но это изменение также не было достоверным ( $p > 0,05$ ). В группах с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию или фитотерапию, напротив, исходно статистически значимо повышенные уровни кателицидина LL-37 ( $p < 0,001$  и  $p < 0,01$ ) в крови снизились ( $p < 0,001$  и  $p < 0,001$ ). Эти данные получены впервые.

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. 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 (рисунок 12). Этот факт свидетельствует об активной антимикробной реакции системы врожденного иммунитета на бактериальную инфекцию при наружном диффузном отите.

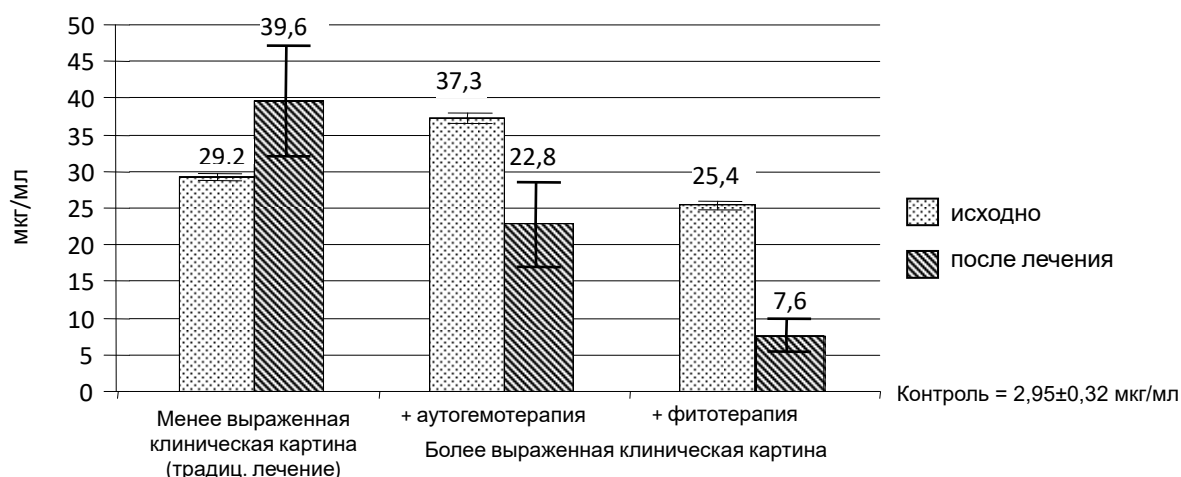


Рисунок 12 – Исходные уровни антимикробного белка ВРІ в крови и их динамика в результате лечения в группах больных БНДО.

После проведения лечения у больных с менее выраженной клинической картиной заболевания (традиционная терапия) наблюдалось продолжение повышения в крови уровня ВРІ ( $p < 0,001$ ). Этот факт является свидетельством неполной эрадикации патогенных бактерий в очаге инфекции, что подтверждается результатами бактериологических исследований. В группах с более выраженной клинической картиной заболевания и с применением местной аутогемотерапии или фитотерапии наблюдалась обратная динамика – статистически значимое снижение уровней ВРІ ( $p < 0,001$  и  $p < 0,001$ ), 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  $\alpha$ - и  $\beta$ -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 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.

### 2.3.6. Общие иммуноглобулины в крови у больных БНДО

При исследовании состояния антителиогенеза основных классов иммуноглобулинов в крови у больных до лечения выявлено статистически значимое снижение содержания иммуноглобулинов А, 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] (рисунок 13).

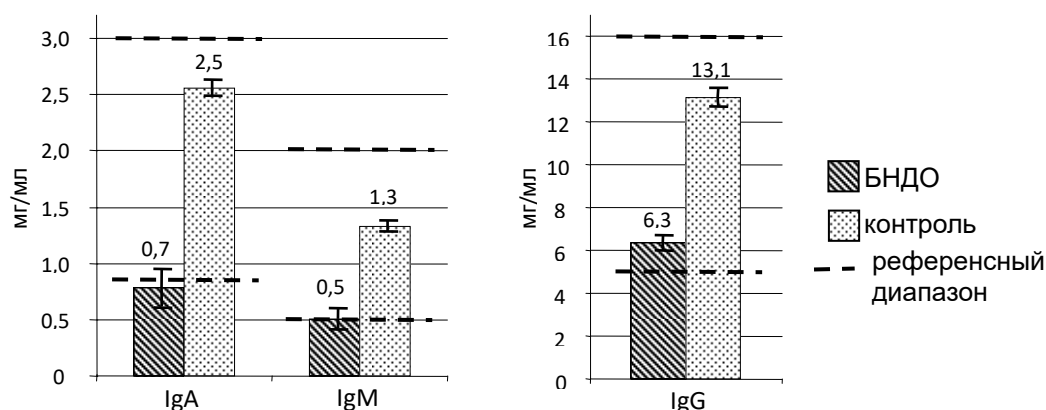


Рисунок 13 – Уровни иммуноглобулинов в крови у больных БНДО.

Этот дисбаланс свидетельствует о нарушении регуляции иммунологических механизмов и снижении их активности [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 снижение содержания IgG в крови (рисунок 14).

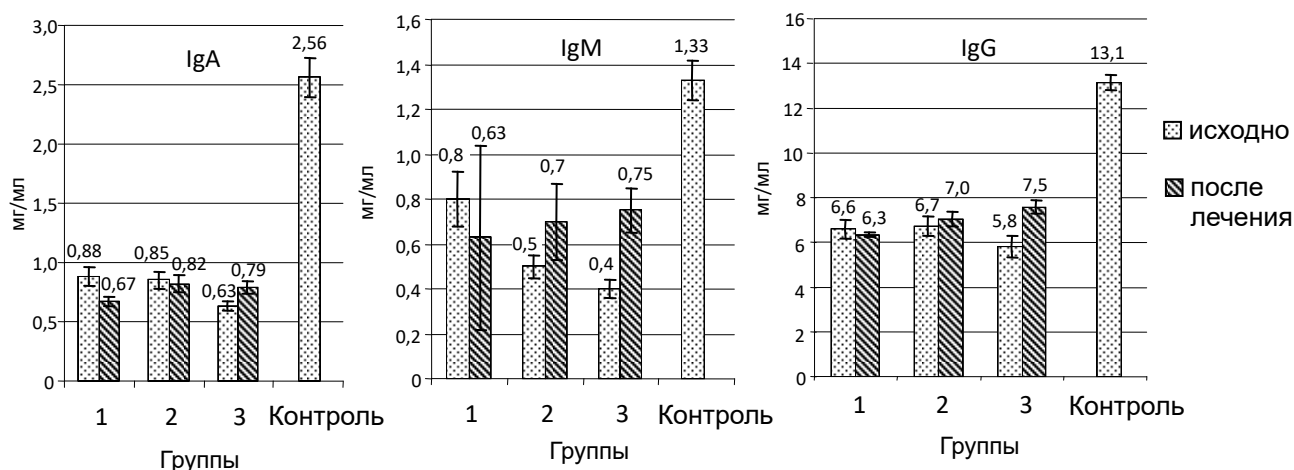


Рисунок 14 – Динамика уровней иммуноглобулинов в результате лечения в группах больных БНДО: 1 - менее выраженная клиническая картина (традиционное лечение), более выраженная клиническая картина: 2 - + аутогемотерапия, 3- + фитотерапия.

В результате проведения курсов лечения, включавших аутогемотерапию или фитотерапию, у больных с более выраженной клинической картиной заболевания отмечена нормализация уровня иммуноглобулинов класса IgM и повышение

уровня IgG в крови. Этот феномен не совпадает с 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 у больных БНДО выявлено статистически значимое повышение в крови общего иммуноглобулина Е, которое может иметь компенсаторный характер на фоне гипогаммаглобулинемии М и G. После лечения в группе с менее выраженной клинической картиной заболевания (традиционная терапия) сохранился его исходный уровень. Напротив, в группе больных с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию, и, в большей степени, в группе больных, получавших фитотерапию, произошло снижение общего IgE.

Этот феномен на фоне повышения (нормализации) уровней общих иммуноглобулинов классов IgM и IgG подтверждает собственное предположение о компенсаторном характере увеличения общего IgE в ответ на гипои́ммуноглобулинемию 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].

Отрицательная корреляция уровня общего иммуноглобулина IgE в крови и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови ( $r_{sp} = -0,38$  для фагоцитарного показателя и  $r_{sp} = -0,42$  для фагоцитарного числа,  $p < 0,05$ ) была установлена при первичном обследовании больных БНДО и сохранялась после лечения ( $r_{sp} = -0,54$  для фагоцитарного показателя и  $r_{sp} = -0,49$  для фагоцитарного числа). Этот факт, выявленный впервые при БНДО подтверждает закономерность патогенетической связи повышенного уровня общего иммуноглобулина Е в крови и недостаточности фагоцитарной активности нейтрофилов крови.

### 2.3.7. Результаты исследования спектра цитокинов в крови у больных БНДО

Первичное изучение статуса провоспалительных цитокинов у больных БНДО показало, что клиническая картина начала заболевания характеризуется статистически значимо повышенным уровнем в крови IL-6 ( $p < 0,01$ ), снижением содержания IL-1 $\beta$  и отсутствием роста продукции и TNF- $\alpha$  (рисунок 15).

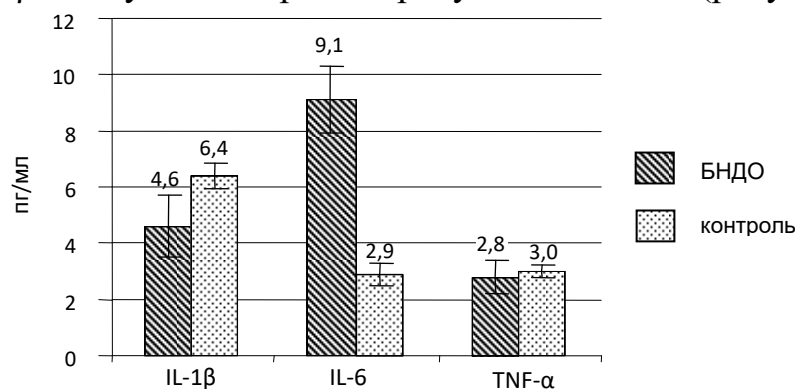


Рисунок 15 – Профиль провоспалительных цитокинов в крови у больных БНДО.

Возможно, что при БНДО недостаточная продукция IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  компенсируется существенным увеличением в крови IL-6, который сопровождает переход от первичных защитных реакций врожденного иммунитета к формированию ответных реакций приобретенного иммунитета [Kaplanski G. et al., 2003; Kishimoto T., 2006; Xing Z. et al., 1998]. 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 $\beta$  остался прежним, статистически значимо пониженным по сравнению с контрольной группой (рисунок 16).

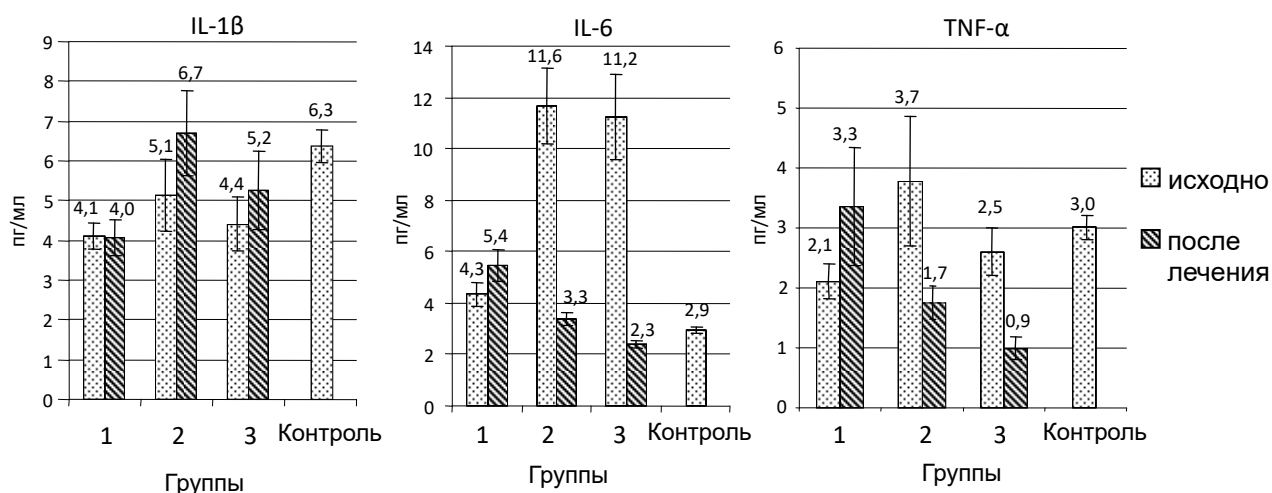


Рисунок 16 – Динамика провоспалительных цитокинов в результате лечения в группах больных БНДО: 1 - менее выраженная клиническая картина (традиционное лечение), более выраженная клиническая картина: 2 - + аутогемотерапия, 3- + фитотерапия.

Напротив, в группах больных с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию или фитотерапию, выявлено повышение уровня IL-1 $\beta$  ( $p>0,05$ ).

В отличие от IL-1 $\beta$  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 ( $p>0,05$ ), а в группах больных с более выраженной клинической картиной заболевания, получавших аутогемотерапию или фитотерапию, отмечено статистически значимое снижение уровней IL-6 до нормальных значений ( $p<0,001$  и  $p<0,001$ ). Такая динамика IL-6, выявленная впервые при БНДО, соответствует процессам нормализации уровней острофазовых белков (СРБ и LBP), антимикробных белков и пептидов и фагоцитарной активности нейтрофилов крови, произошедших в результате лечения.

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  $\alpha$ - и  $\beta$ -дефенсинов, кателицидина LL-37 и BPI-белка, что указывает на неполное восстановление системы иммунитета.

Исходное содержание TNF- $\alpha$  в крови у больных БНДО не имело достоверных различий с контрольной группой. Отсутствие продукции TNF- $\alpha$  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 $\beta$  и TNF- $\alpha$  при повышении уровня IL-6 [Симбирцев А.С., 2011].

В результате традиционного лечения содержание TNF- $\alpha$  в крови у больных с менее выраженной клинической картиной не изменилось и осталось таким же, как и в контрольной группе. В группах с более выраженной клинической картиной, получавших аутогемотерапию или фитотерапию, выявлено статистически значимое снижение TNF- $\alpha$  как по сравнению с его уровнем до лечения, так и по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,01$  и  $p < 0,001$ ).

Нормализация сниженных исходно уровней IL-1 $\beta$ , а также снижение повышенных до лечения уровней IL-6 и TNF- $\alpha$  свидетельствует о более выраженном противовоспалительном и иммунорегуляторном эффекте методов местной аутогемотерапии и фитотерапии настоем чистотела по сравнению с традиционным лечением бактериального наружного диффузного отита.

Результаты собственных исследований впервые демонстрируют, что различная эффективность лечения больных БНДО обусловлена исходным состоянием системы иммунитета, а также воздействием на нее методов лечения.

## **2.4. Влияние латентных инфекций на хроническую патологию лимфоэпителиального глоточного кольца, осложненную экссудативным средним отитом, у детей**

### **2.4.1. Формирование групп исследования на основе определения в крови маркеров латентных инфекций**

Собственные данные о частоте выявления в крови маркеров (специфических антител IgM, IgA и IgG) ВЭБ-, ЦМВ-, микоплазменной и хламидофилезной инфекций в целом совпадают с данными литературы о частоте носительства данных патогенов [Яцык Г.В. и соавт., 2009; Hagay Z.J. et al., 1996; Niedobitek G. et al., 2000], однако связь их хронической персистенции с характером клинической картины заболевания изучена впервые.

Больные экссудативным средним отитом (ЭСО) были разделены на три группы исследования в зависимости от наличия персистирующих латентных инфекций. Одну группу составили пациенты, в пробах которых были выявлены только специфические иммуноглобулины IgM и IgG к ВЭБ и ЦМВ. Во вторую группу вошли больные с наличием маркеров четырех латентных инфекций: специфических иммуноглобулинов IgM и IgG к ЦМВ, ВЭБ, специфических иммуноглобулинов IgM, IgA и IgG к *Chlamydomphila pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae*. Больные, у которых в крови отсутствовали маркеры латентных инфекций, были включены в третью группу.

### 2.4.2. Влияние латентных инфекций на клиническую картину хронической патологии лимфоэпителиального глоточного кольца, осложненной экссудативным средним отитом, у детей

Выявлено, что наибольшая частота 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 (рисунок 17). Таким образом, лимфопролиферативный синдром был наиболее выраженным у больных с маркерами герпесвирусных инфекций.

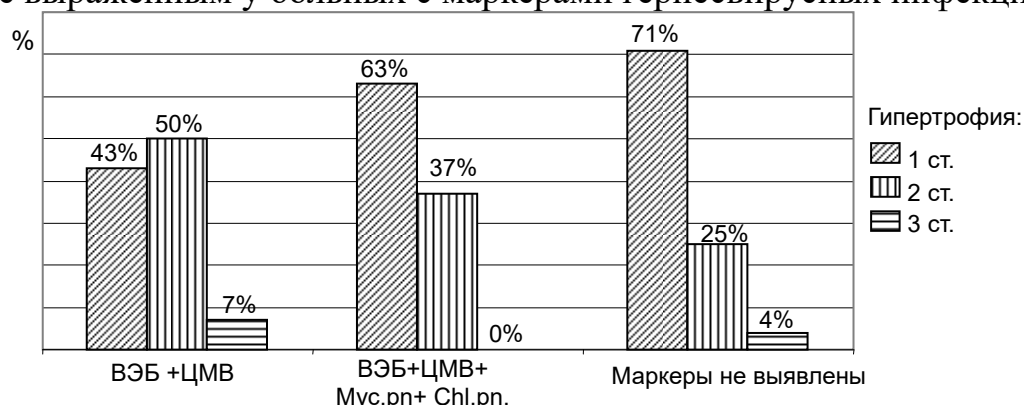


Рисунок 17 – Частота различных степеней гипертрофии небных миндалин в группах исследования.

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 достоверными. При сравнении частот выявления различных стадий ЭСО в группах больных различий не обнаружено. Этот факт объясняется тем, что стадии принадлежат к одному заболеванию, сменяя одна другую. А различие частоты выявления той или иной стадии обусловлено их различной длительностью и степенью субъективных клинических проявлений, которые являются причиной обращения больных за медицинской помощью.

### 2.4.3. Влияние латентных инфекций на аллергический компонент патогенеза экссудативного среднего отита у детей

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 дисфункции слуховой трубы, и, как следствие, развитию экссудативного среднего отита [Бурмистрова Т.В., 2004; Лопатин А.С., 2003; Döner F. et al., 2004]. Однако участие изученных латентных инфекций в патогенезе аллергии у больных ЭСО показано впервые.

Результаты клинического анализа крови показали, что у больных групп с маркерами латентных инфекций по сравнению с пациентами без них чаще выявлялся лейкоцитоз. Эозинофилия обнаруживалась статистически значимо



чаще у больных с маркерами четырех латентных инфекций. В мазке из полости носа эозинофилия и лимфоцитоз обнаруживались у больных с маркерами четырех латентных инфекций также статистически значимо чаще. Нормальный тип клеточного состава доминировал в группе без маркеров латентных инфекций.

В группе с маркерами четырех латентных инфекций статистически значимо чаще определялось повышенное содержание иммуноглобулина Е (рисунок 18). При этом его уровень у больных с маркерами герпесвирусных инфекций было статистически значимо выше, чем у больных без маркеров латентных инфекций.

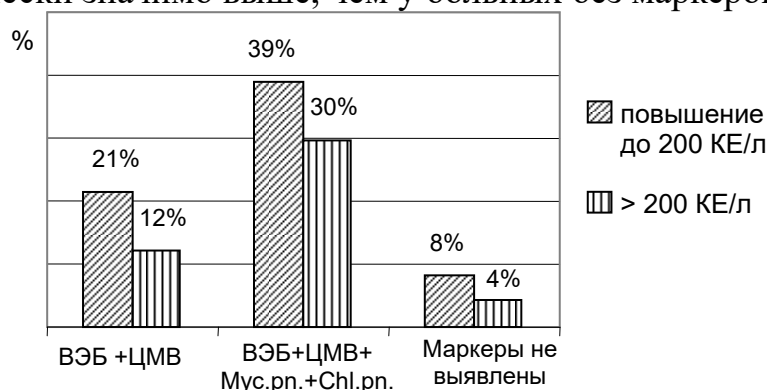


Рисунок 18 – Частота повышенных уровней общего иммуноглобулина Е в крови в группах исследования.

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 герпесвирусных (ВЭБ и ЦМВ), микоплазменной и хламидофилезной инфекций.

#### 2.4.4. Цитологическая характеристика и цитокиновый спектр смывов из барабанной полости у детей с экссудативным средним отитом

Смывы из барабанной полости больных ЭСО выполняли разными объемами стерильного физиологического раствора (0,8-1,23 мл) в зависимости от возраста ребенка. Полученные образцы стандартизовали по содержанию общего белка [Bradford M.M., 1976].

Результаты цитологических исследований показали, что наиболее часто в образцах смывной жидкости выявлялись нейтрофилы и лимфоциты, что соответствует воспалительному и воспалительно-регенераторному типам процессов. Повышенное содержание эозинофилов было выявлено только в малой части случаев, что, вместе с тем, не исключает участие аллергического компонента в патогенезе ЭСО.

Значимые уровни цитокинов в смывной жидкости (более 0,2 пг/мл) были выявлены в группах исследования с частотой от 8% до 53%. Достоверных различий частоты обнаружения IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$  и IL-6 между группами не выявлено ( $p>0,05$ ) (рисунок 19). Вместе с тем, в группах с персистирующими латентными инфекциями наблюдается тенденция более высокой продукции провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-6.

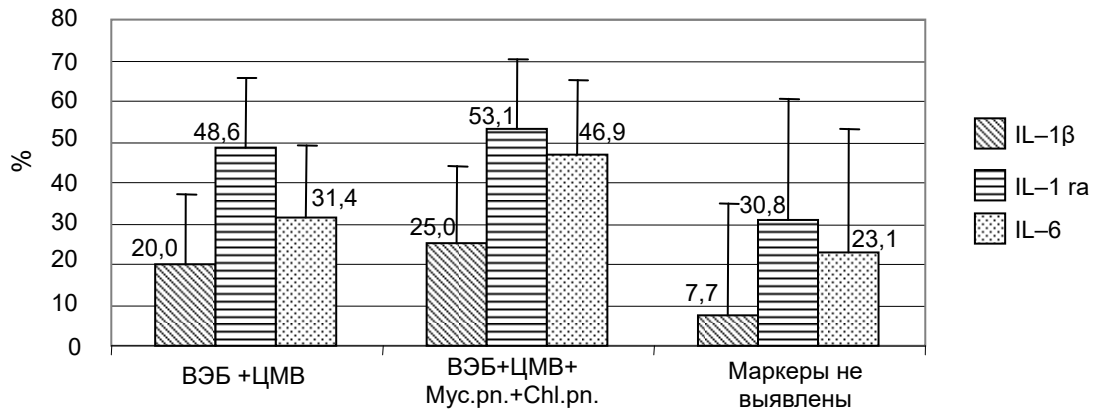


Рисунок 19 – Частота выявления про- и противовоспалительных цитокинов в смывах из полости среднего уха в группах исследования.

У больных с маркерами всех четырех латентных инфекций по сравнению с группой, имеющих только маркеры герпесвирусов, на фоне близких значений уровней цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-1ra отмечена более высокая частота выявления IL-6, 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 и при других патологических состояниях группа провоспалительных цитокинов участвует во 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- $\gamma$  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.

Выявление цитокинов в смывной жидкости означало их концентрацию более 0,2 пг/мл. В обеих группах с клиническими проявлениями аллергической патологии определена более высокая частота выявления IL-4 в экссудате барабанной полости, чем в группе без аллергических проявлений (рисунок 20). Наименьшая частота определения IFN- $\gamma$  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- $\gamma$  в полости среднего уха, выявленное впервые у больных ЭСО с признаками алергизации, является свидетельством аллергического компонента в хроническом воспалении слизистой оболочки барабанной полости.

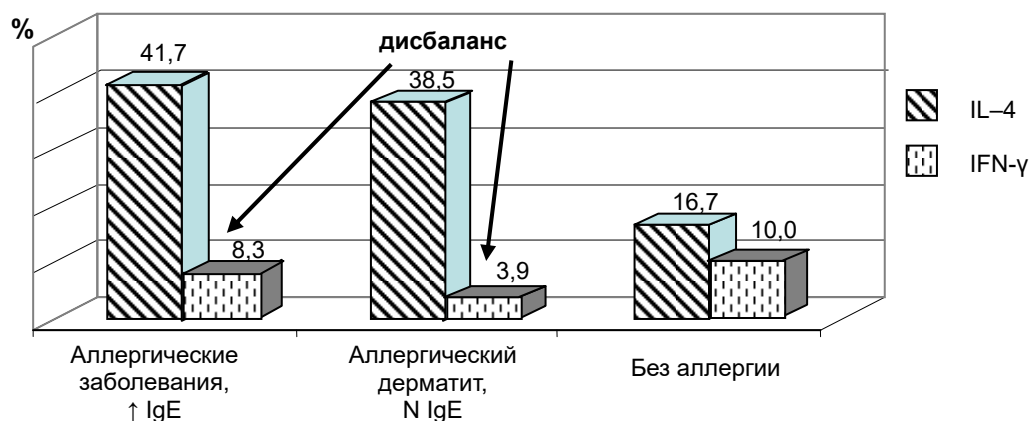


Рисунок 20 – Частота выявления цитокинов IL-4 и IFN-γ в смывах из полости среднего уха в группах исследования

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 способна влиять на повышение продукции IgE и формирование генерализованной гиперчувствительности [Смирнова Г.И., 2006; Leung D.Y., 2013].

#### 2.4.5. Использование результатов исследований на латентные инфекции для определения индивидуальных схем лечения в послеоперационном периоде

Всем пациентам была выполнена аденотомия с тимпанопункцией или мириготомией.

Через 1 месяц после проведения оперативного вмешательства, учитывая меньшую частоту восстановления слуховой и тубарной функции у пациентов с наличием маркеров латентных инфекций, части пациентов, которые прибывали на контрольные осмотры, была назначена специфическая антимикробная терапия в соответствии с видом патогенов. 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 6 месяцев после проведения оперативного вмешательства стойкая нормализация слуховой и тубарной функции выявлена у 95,83% пациентов без маркеров латентных инфекций. У больных с наличием маркеров различных инфекционных агентов, получавших этиотропное лечение, этот показатель составил 90,91%, а у пациентов, которые не проходили контрольные осмотры и не получали антимикробной терапии, положительный результат получен только в 70% случаев.

Результаты настоящей работы доказывают, что обследование детей с ЭСО

требует включения лабораторных методов определения маркеров латентных инфекций для более эффективного проведения контрольных осмотров и выбора этиотропной антимикробной терапии в послеоперационном периоде.

## 2.5. Влияние операционной травмы и латентных инфекций на систему гемостаза у детей с хронической патологией лимфоэпителиального глоточного кольца

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, повышенный уровень фибриногена и пониженные и повышенные уровни тромбоцитов).

### 2.5.1. Воздействие операционной травмы на систему гемостаза у детей с ХПЛГК

У большинства пациентов оперативное вмешательство вызвало изменения адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов, но у больных с операционными кровотечениями изменения агрегации тромбоцитов наблюдались чаще (рисунок 21).

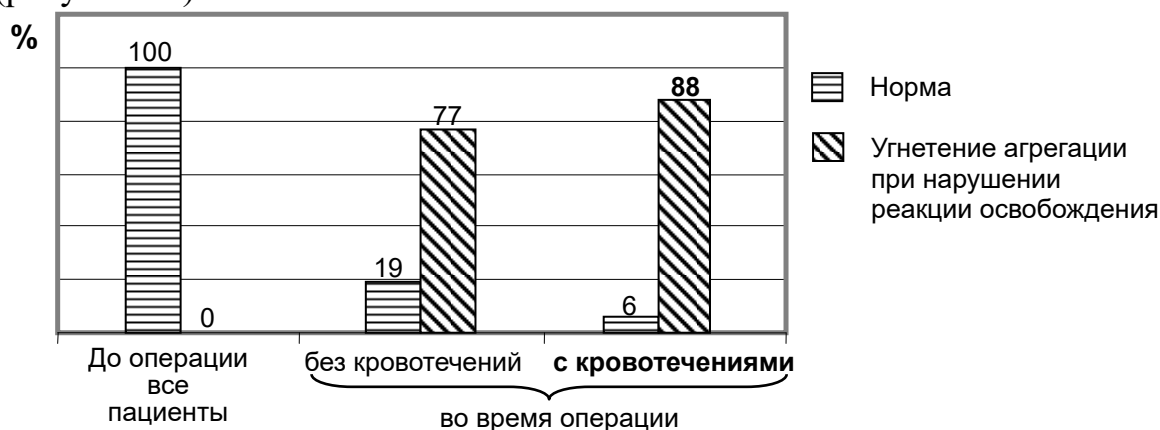


Рисунок 21 – Влияние операционной травмы на агрегационную функцию тромбоцитов у больных ХПЛГК.

При этом у подавляющего большинства зарегистрировано угнетение агрегации тромбоцитов. Обращает на себя внимание и более высокая частота операционных кровотечений у больных, имевших отклонения показателей свертывающей системы крови во время предоперационного обследования.

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, и это значение в группе с кровотечениями было статистически значимо ниже по сравнению с группой больных без кровотечений. Через 1 месяц после операции значение степени агрегации тромбоцитов в группе больных с кровотечениями восстановилось с некоторым превышением предоперационного уровня.

Такая динамика степени агрегации тромбоцитов обнаружена впервые и 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 частота отклонений от нормы уровней протромбина была статистически значимо выше, чем у больных без осложнений (рисунок 22).

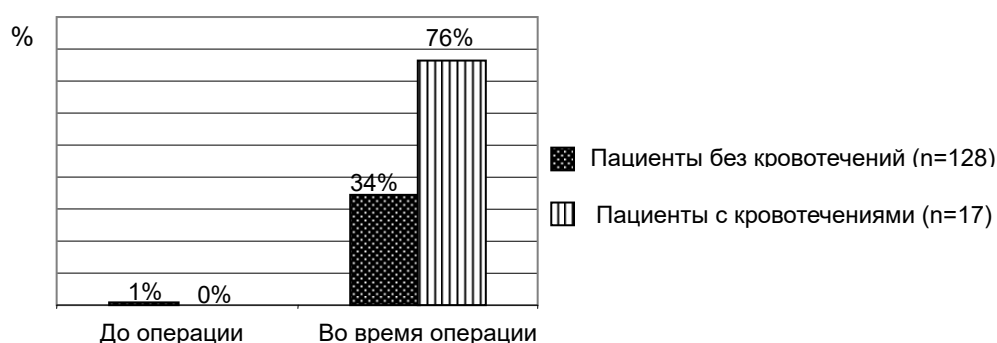


Рисунок 22 – Воздействие операционной травмы на частоту отклонений от нормы значений протромбина по Квику в группах больных без операционных осложнений и с операционным кровотечением.

Таким образом, не только нарушения тромбоцитарного звена гемостаза, но также и внешнего и внутреннего путей плазменного гемостаза наблюдались чаще в группе больных с операционными кровотечениями.

### **2.5.2. Связь нарушений системы гемостаза и операционных кровотечений с ВЭБ-, ЦМВ- и стрептококковой инфекциями у детей с ХПЛГК**

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].

Выполнение оперативных вмешательств на глоточной и небных миндалинах сопровождалось операционными кровотечениями в 11,7% случаев. Наибольшая частота операционных кровотечений зарегистрирована у больных с маркерами

герпесвирусных и стрептококковой инфекций (рисунок 23).

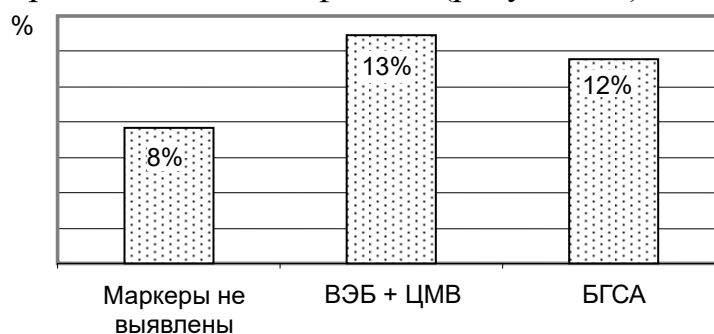


Рисунок 23 – Влияние персистирующих инфекций ВЭБ, ЦМВ и БГСА на частоту операционных кровотечений у больных ХПЛГК.

В собственных исследованиях впервые показано, что операционная травма на фоне персистирующей герпесвирусной инфекции у детей сопровождалась более значительными нарушениями агрегационной функции тромбоцитов (рисунки 24 и 25).

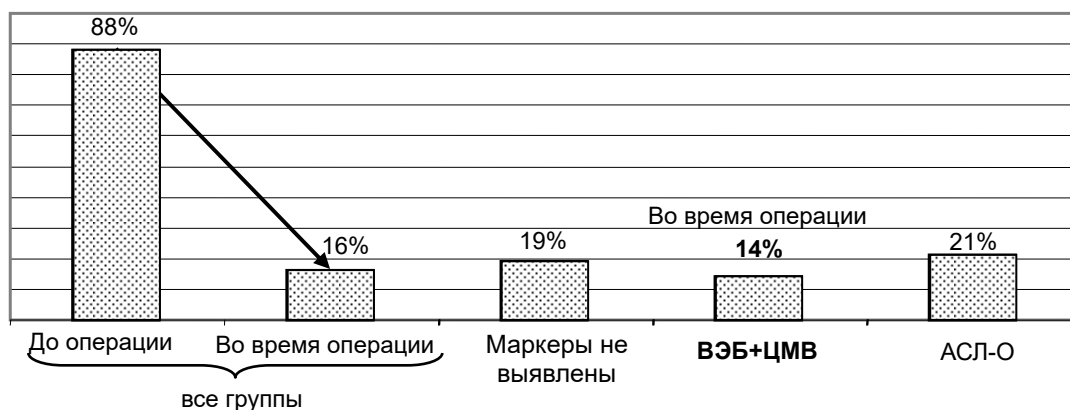


Рисунок 24 – Влияние операционной травмы на степень агрегации тромбоцитов у больных с операционными кровотечениями в группах исследования.

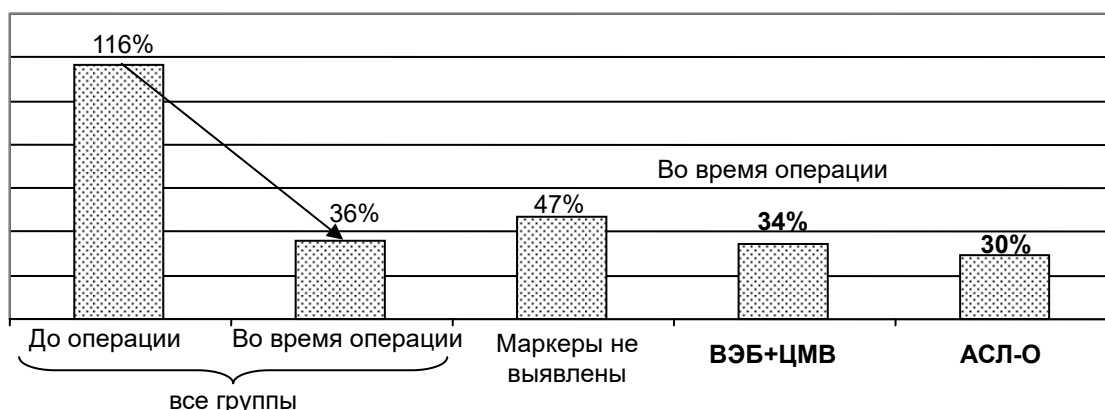


Рисунок 25 – Влияние операционной травмы на степень агрегации тромбоцитов у больных без операционных кровотечений в группах исследования.

Тромбоцитопатия, обусловленная влиянием ВЭБ-, ЦМВ- и стрептококковой инфекций, проявляется снижением агрегационной активности тромбоцитов при

нарушении реакций освобождения.

### 2.5.3. Изучение плазменного фибронектина у детей с ХПЛГК

Определение в крови плазменного фибронектина методом ИФА показало, что его среднее значение у больных ХПЛГК до операции было несколько выше референсных значений (70-148 мкг/мл) и составило  $153,1 \pm 61,08$  мкг/мл. В контрольной группе среднее значение плазменного фибронектина составило  $126,14 \pm 26,07$  мкг/мл. Достоверных различий в уровнях плазменного фибронектина в возрастных группах не выявлено.

Анализ уровней фибронектина в группах исследования показал, что у больных без маркеров инфекций ( $122,5 \pm 38,5$  мкг/мл) и в группе контроля ( $126,14 \pm 26,07$  мкг/мл) они являются схожими и находятся в пределах референсных значений (рисунок 26).

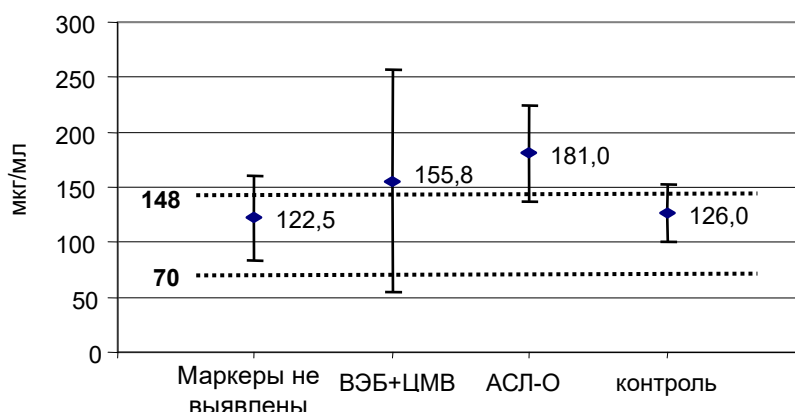


Рисунок 26 – Влияние персистирующих инфекций ВЭБ, ЦМВ и БГСА на уровень в крови плазменного фибронектина у больных ХПЛГК (пунктиром показан референсный диапазон).

У больных с маркерами герпесвирусных инфекций среднее значение плазменного фибронектина  $155,8 \pm 101,24$  мкг/мл превышает референсные значения, а у больных с АСЛ-О выявлен его максимальный уровень –  $181 \pm 43,5$  мкг/мл, статистически значимо отличающийся от контрольной группы и больных без маркеров инфекций ( $p < 0,05$ ). Выявленные различия являются свидетельством влияния хронических инфекций на продукцию плазменного фибронектина, что может быть связано с нарушениями внешнего и внутреннего каскадов свертывающей системы.

Во время оперативного вмешательства обнаружено уменьшение уровня фибронектина до верхней границы референсного диапазона (рисунок 27).

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 достоверным ( $p > 0,05$ ), что, вероятно, обусловлено небольшими объемами кровопотери во время оперативных вмешательств на миндалинах лимфоэпителиального плоточного кольца.

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].

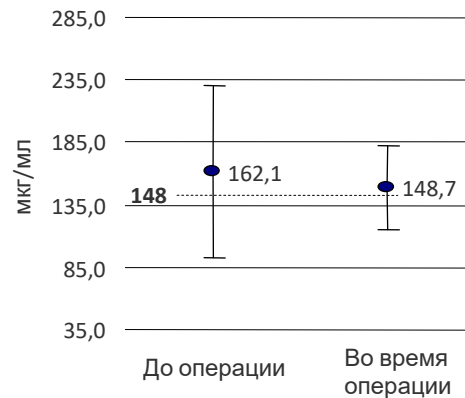


Рисунок 27 – Динамика фибронектина в крови больных ХПЛГК в результате оперативного вмешательства (пунктиром показана максимальное значение референсного диапазона – 148 мкг/мл).

Однако большинство публикаций посвящено нарушениям, выражающимся гиперкоагуляцией крови. Результаты собственного исследования, напротив, впервые выявляют гипокоагуляционные нарушения в свертывающей системе крови у детей при оперативных вмешательствах на миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца. 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 персистенция хронических герпесвирусной и стрептококковой инфекций является фактором риска возникновения операционных кровотечений. Повышенные уровни плазменного фибронектина у детей с маркерами этих инфекций являются компенсаторной реакцией на скрытые нарушения системы гемостаза.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение значения традиционных лабораторных исследований для оценки патологических процессов в тканях небных миндалин у взрослых больных хроническим тонзиллитом показало отсутствие информативных показателей для данной патологии. Метаболомный анализ выдыхаемого воздуха больных с помощью анализатора «электронный нос» позволил выявить характерные спектры газообразных метаболитов, статистически значимо отличающиеся при компенсированной и декомпенсированной формах заболевания. Доказано, что повышенные уровни летучих метаболитов обусловлены процессами хронического воспаления в небных миндалинах.

Определение липидов в региональных внешних секретах холестерина у больных ХГСО и гистологические исследования операционного материала из барабанной полости позволили выявить нарушение 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.

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.

Продемонстрировано негативное влияние персистирующих герпесвирусных, микоплазменной и хламидийной инфекций при хроническом аденоидите у детей 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 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 факторы 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 $\beta$  и TNF- $\alpha$ .

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 $\beta$  и IL-6 и дисбалансом продукции IL-4 и IFN- $\gamma$ .

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 хламидофилезной 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертации**

1. К вопросу о геморрагических наружных отитах / М.О. Кустов, С.А. Артюшкин, **П.В. Начаров** [и др.] // Вестн. Авиценны. – 2011. – № 4 (49). – С. 139-143.
2. Кайда, С.А. Бактериальная флора небных миндалин у больных хроническим тонзиллитом после применения различных методов консервативного лечения / С.А. Кайда, **П.В. Начаров**, В.А. Косенко // Рос. оторинолар. – 2008. – № 1. – С. 7-11.
3. Кустов, М.О. Иммунологическая характеристика больных бактериальным наружным диффузным отитом / М.О. Кустов, **П.В. Начаров**, Л.Л. Клячко // Рос. оторинолар. – 2013. – № 2 (63). – С. 56-61.
4. Микрофлора наружного слухового прохода у больных бактериальным наружным диффузным отитом / М.О. Кустов, С.А. Артюшкин, **П.В. Начаров** [и др.] // Рос. оторинолар. – 2012. – № 3. – С. 66-70.
5. **Начаров, П.В.** Анализ газового состава выдыхаемого воздуха в дифференциальной диагностике хронического тонзиллита / П.В. Начаров, И.Э. Джагацпаян, А.А. Корнеев // Сиб. Мед. Журн. (Иркутск). – 2015. – Т. 139, № 8. – С. 12-15.
6. **Начаров, П.В.** Цитокины в патогенезе средних отитов / П.В. Начаров, Л.Л. Клячко, Ю.К. Янов // Цитокины и воспаление. – 2016. – Т. 15, № 1. – С. 5-11.
7. **Начаров, П.В.** Цитокины при средних отитах у детей / П.В. Начаров, М.В. Дроздова, Ю.С. Преображенская // Рос. оторинолар. – 2015. – № 5. – С. 95-100.
8. Особенности гемостаза при операциях на лимфоэпителиальном глоточном кольце у детей с персистирующей инфекционной патологией / М.В. Дроздова, **П.В. Начаров**, Е.В. Тырнова [и др.] // Рос. оторинолар. – 2015. – № 4. – С. 43-48.
9. Особенности этиопатогенеза экссудативного среднего отита у детей на современном этапе / Ю.С. Преображенская, М.В. Дроздова, **П.В. Начаров** [и др.] // Рос. оторинолар. – 2013. – № 5 (66). – С. 82-85.
10. Остеотропные цитокины при хроническом среднем отите с тимпаносклерозом / Р.Р. Миниахметова, А.С. Симбирцев, И.А. Аникин, **П.В. Начаров** [и др.] // Рос. оторинолар. – 2010. – № 2. – С. 56-63.
11. Продукция цитокинов при экссудативном среднем отите у детей / **П.В. Начаров**, М.В. Дроздова, Ю.С. Преображенская [и др.] // Рос. оторинолар. – 2015. – № 6. С. – 52-57.
12. Результаты изучения аллергического компонента в патогенезе экссудативного среднего отита у детей / **П.В. Начаров**, М.В. Дроздова, Ю.С. Преображенская [и др.] // Цитокины и воспаление.- 2016. – Т. 15, № 1. – С. 106-109.
13. Результаты применения низкоинтенсивного лазера в лечении больных хроническим тонзиллитом / С.А. Кайда, **П.В. Начаров**, В.А. Косенко [и др.] // Рос. оторинолар. – 2008. – № 5. – С. 73-78.

14. Современные методы остановки кровотечений при операциях на лимфоэпителиальном глоточном кольце (обзор) // М.В. Дроздова, **П.В. Начаров**, Р.Т. Очилов [и др.] // Рос. оторинолар. – 2014. – № 5 (72). – С. 111-119.
15. Содержание С-реактивного белка в сыворотке крови у больных бактериальным наружным диффузным отитом / М.О. Кустов, С.А. Артюшкин, **П.В. Начаров** [и др.] // Рос. оторинолар. – 2012. № 5 (60). – С. 77-80.
16. Щербакова, Н.В. Анализ газового состава выдыхаемого воздуха в диагностике заболеваний / Н.В. Щербакова, **П.В. Начаров**, Ю.К. Янов // Рос. оторинолар. – 2005. – № 4. – С. 126-131.
17. Этиологические аспекты экссудативного среднего отита у детей дошкольного возраста / Ю.С. Преображенская, М.В. Дроздова, С.Н. Ларионова, **П.В. Начаров** [и др.] // Рос. оторинолар. – 2012. – № 6 (61). – С. 126-131.

#### **Патенты на изобретения**

18. Способ диагностики холестеатомы среднего уха: пат. № 2315302 Рос. Федерация МПК: G01N33/48 /Азнаурян А.М., Янов Ю.К., Ситников В.П., Аникин И.А., **Начаров П.В.**; патентообладатель Федеральное государственное учреждение Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию (СПб НИИ ЛОР Росздрава); заяв. 14.03.2006 г., опублик. 20.01.2008 г.

#### **Приоритетные справки на изобретения**

19. Щербакова, Н.В. Способ диагностики хронического тонзиллита по газовому составу выдыхаемого воздуха / Н.В. Щербакова, **П.В. Начаров**, Ю.К. Янов // Приоритетная справка на изобретение № 2006146016 от 14.12.06.

#### **Руководства и справочники**

20. **Начаров, П.В.** Методы иммуноанализа / П.В. Начаров // Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник. Медицинские лабораторные технологии / под ред. А.И. Карпищенко. – СПб. : Интермедика, 2002. – С. 399–449.
21. **Начаров, П.В.** Методы иммуноанализа / П.В. Начаров // Медицинские лабораторные технологии: Руководство по клинической лабораторной диагностике / под ред. А.И. Карпищенко: в 2-х томах – Т.2. – М : Гэотар-Медиа, 2012. – С. 376-427.

#### **Учебные и методические пособия**

22. Использование чистотела в комплексном лечении больных с воспалительными заболеваниями ЛОР-органов: учебн. пособие / М.О. Кустов, Л.А. Гребенщикова, **П.В. Начаров** [и др.]. – СПб. : Изд-во СЗГМУ им. Мечникова, 2014. – 44 с.

#### **Статьи, тезисы докладов и статей, другие научные издания**

23. Азнаурян, А.М. Биохимические и морфологические исследования при хроническом гнойном холестеатомном среднем отите / А.М. Азнаурян, Е.В. Тырнова, **П.В. Начаров** // Матер. XVII съезда оторинолар. России, Нижний Новгород, 7-9 июня 2006. – СПб.: РИА-АМИ, 2006. – С. 80.

24. **Начаров, П.В.** Влияние местной аутогемотерапии на систему иммунитета у больных БНДО / П.В. Начаров, М.О. Кустов // Клини. лаб. диагностика. – 2015. – №9. – С. 117-118.
25. **Начаров, П.В.** Исследование газового состава выдыхаемого воздуха у больных хроническим тонзиллитом / П.В. Начаров, И.Э. Джагацпанян // Международный Научный Институт "Educatio". – 2015. – №4 (11). – С. 58-61.
26. **Начаров, П.В.** Морфологические исследования региональных внешних секретов у больных хроническим гнойным холестеатомным средним отитом / П.В. Начаров, А.М. Азнаурян // Клини. лаб. диагностика. – 2015. – №9. – С. 52.
27. **Начаров, П.В.** Результаты клинических, иммунологических лабораторных исследований и анализа газового состава выдыхаемого воздуха у больных хроническим тонзиллитом / П.В. Начаров, И.Э. Джагацпанян // Клини. лаб. диагностика. – 2015. – №9. – С. 51-52.
28. Щербакова, Н.В. Анализ газового состава выдыхаемого воздуха в диагностике хронического тонзиллита / Н.В. Щербакова, **П.В. Начаров** // Матер. XVII съезда оторинолар. России, Нижний Новгород, 7-9 июня 2006. – СПб.: РИА-АМИ, 2006. – С. 237.
29. Щербакова, Н.В. Определение эффективности лечения хронического тонзиллита по газовому составу выдыхаемого воздуха / Н.В. Щербакова, Ю.К. Янов, **П.В. Начаров** // Матер. II научно-практ. конф. оториноларингологов Южного Федерального окр., 28-29 сент. 2006. – Майкоп, 2006. – С. 222-225.