

Экспериментальное обоснование применения иммуностропных средств при лечении больных постимплантационным гайморитом

М.Б. Пионтовская,
О.Ф. Мельников, А.Н. Друмова

Одесский национальный
медицинский университет

Постимплантационный гайморит (ПИГ) развивается как последствие внутрикостного дентального протезирования альвеолярного отростка верхней челюсти. Как показали клинические наблюдения [3, 8] в основе процесса патогенеза первично лежит не банальное инфицирование синуса и инициация острого, подострого и/или хронического воспаления, а значимый местный иммунологический конфликт. В настоящее время все большее признание получает локальная иммунофармакотерапия, в которой основным направлением является использование препаратов с наименьшим количеством негативных влияний и большим спектром терапевтического воздействия на структурные основы мукозального иммунитета [4, 11, 12, 16]. В этой связи, поиск эффективных препаратов для целей локальной иммуномодуляции и эффективной терапии воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей остается актуальной задачей экспериментальной и клинической отоларингологии.

В Украине синтезирован препарат тиотриазолин (ТТ), обладающий свойствами выраженного мембранокорректора с гепатотропным и иммуномодулирующим действием при общем применении [1, 13, 14, 16]. Представлялось целесообразным исследовать действие препарата на клетки лимфоидного ряда для обоснования местной фармакотерапии ПИГ.

Цель – определить влияния иммуностропных препаратов тиотриазолина, витамина С на продукцию клетками крови больных с ПИГ про- и противовоспалительных цитокинов, иммунорегуляторных цитокинов и факторов врожденного иммунитета – активность естественных цитотоксических клеток (ЕЦК) и фагоцитов.

Материалы и методы исследования

Для проведения исследования были взяты клеточные взвеси от 14 больных ПИГ и 10 здоровых доноров. Кровь получали натощак из локтевой вены в раствор гепарина (10 ед/мл) и отдельно в сухую пробирку для получения сыворотки. Гепаринизированную кровь разделяли с помощью фиколлапа (1.077 плотности), выделяли мононуклеары и отмывали их в среде RPMI-1640 (Serva, Германия). Аналогичным образом поступали при обследовании практически здоровых доноров.

Цитолитическую активность клеток крови определяли в виде активности ЕЦК против клеток-мишеней, которыми служили эритроциты цыплят (ЭЦ). Питательной средой служила RPMI-1640 с гентамицином (60 мкг/мл) и L-глутамином (реактивы Serva, Германия). Результат деструкции определяли спектрофотометрически по уровню вышедшего из ЭЦ гемоглобина и выражали в процентах.

Активность фагоцитоза исследовали по захвату частиц латекса по методике И.П. Кайдашева и соавторов, при этом определяли число фагоцитирующих клеток (фагоцитарный показатель) и число частиц латекса, поглощенное одним фагоцитом (фагоцитарный индекс), до и через 2 часа после добавления препарата в дозе 100 мкг на пробу, а также фагоцитарной активности клеток биохимиллюминесцентным методом с применением люминола и выведением коэффициента активности фагоцитоза по А.В. Караулову и соавторам.

В надосадочной жидкости в указанные сроки исследования определяли **уровень провоспалительного цитокина интерлейкина-1 β (Ил-1) и противовоспалительного интерлей-**

кина-10 (Ил-10), а также гамма-интерферона (ИФН-γ) и его антагониста интерлейкина-4 (Ил-4). Применяли реактивы фирм Цитокин и Вектор-Бест (РФ) и анализатор Lab Line (Австрия).

Больным ПИГ до и после лечения проводилось обязательное КТ исследование (рис.1, 2).



Рис. 1. Больной 3., 69 лет. ПИГ. КТ. Фронтальная проекция. До лечения.



Рис. 2. Тот же больной после лечения.

Данные исследований обрабатывали с использованием критерия «U»-Вилкоксона-Манна-Уитни [2].

Для определения свойства группы антиоксидантных витаминов дозозависимо изменять уровень некоторых иммунологических реакций [4, 13, 15] в части экспериментальной работы были проведены исследования по выявлению действия витамина С отдельно и в сочетании с тиотриазолином на активность ЕЦК и продукцию цитокинов.

Результаты и их обсуждение

Тиотриазолин повышал деструктивную активность ЕЦК крови больных с ПИГ, не влияя на активность этих клеток у здоровых доноров. Наиболее высокие уровни стимуляции отмечены при сочетании тиотриазолина с витамином С ($p < 0,02$), хотя сам по себе витамин С за время инкубации практически не активировал активность ЕЦК крови больных в культуре *in vitro* (табл.1).

Исследование фагоцитарной активности клеток крови больных ПИГ и практически здоровых доноров показало (табл. 2), что тиотриазолин оказывал дозозависимый эффект на активность фагоцитирующих клеток и большие дозы >200 мкг/мл, как правило, угнетали активность фагоцитоза как в люминисцентном, так и латексном тестах. Наиболее эффективной была дозировка препарата в пределах 100 мкг/мл.

При добавлении к клеткам крови больных ПИГ витамина С в указанной выше дозировке было отмечено усиление как фагоцитарного показателя, так и фагоцитарного индекса, что свидетельствует о том, что аскорбиновая кислота потенцирует активирующее действие тиотриазолина (рис. 3, 4) на фагоциты крови больных ПИГ.

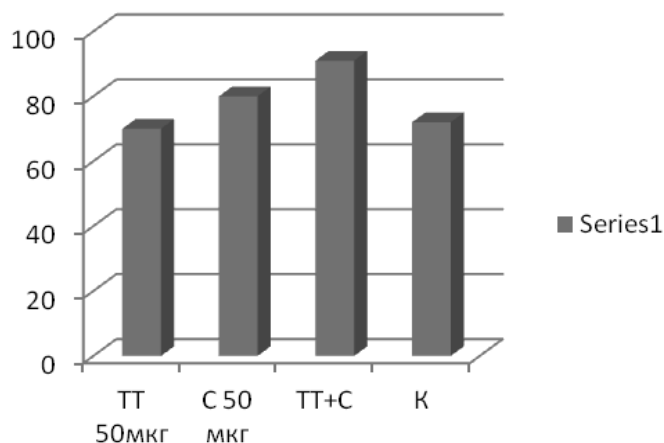


Рис. 3. Влияние препаратов ТТ и витамина С на уровень фагоцитарного показателя

Таблица 1.

Функциональная активность цитотоксических клеток крови у различных групп обследованных.

Препараты	№ группы(n)	% деструкции клеток-мишеней (ЭЦ)	
		Больные ПИГ	Здоровые доноры
Исходный (без препарата)	1	12,2 ± 2,4	36,5 ± 3,9
Тиотриазолин	2	26,4±4,2	40,6± 10,8
Витамин С (50 мкг)	3	21,6 ±4,2	35,6 ± 4,2
Тиотриазолин+ витамин С	4	33,5±9,3	44,0±10,2
Достоверность различий между группами, p		1-2<0,05	1-2>0,05
		1-3>0,05	2-3>0,05
		1-4<0,02	1-4>0,05
		3-4>0,05	3-4>0,05

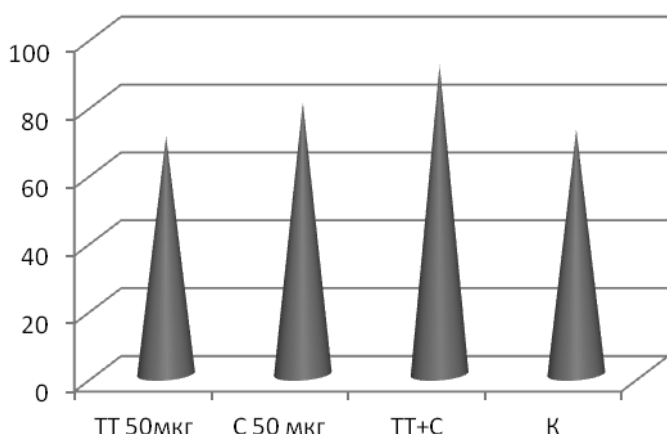


Рис. 4. Влияние препаратов ТТ и витамина С на уровень фагоцитарного индекса.

В надосадочной жидкости после суточного культивирования клеток больных ПИГ с тиотриазолином и без него были определены концентрации 4-х цитокинов: Ил 1,4 и 10, а также ИНФ-г. Данные о влиянии тиотриазолина на продукцию клетками крови провоспалительного Ил-1 и противовоспалительного Ил-10 представлены в таблице 3. Тиотриазолин по

Таблица 2.

Активность фагоцитоза у здоровых доноров и у больных ПИГ при действии на клетки последних различных доз тиотриазолина.

Группы	n	Ка фагоцитоза	Фагоцитарный индекс
ТТ – 25 мкг/мл	10	1,5± 0,3	4,8 ± 1,2
ТТ – 50 мкг/мл	10	1,4 ± 0,4	5,6 ± 0,9
ТТ –100 мкг/мл	9	1,8 ± 0,1-*	8,6 ± 1,8*
ТТ 250 мкг /мл	10	1,3 ±0,2	3,4 ± 1,0
Контроль	10	1,3 ±0,2	5,2 ± 0,6

Примечание: ТТ – тиотриазолин; * – статистически значимо по отношению к контролю.

сравнению с исходным уровнем (без препарата) снижал достоверно продукцию Ил-1 и практически не влиял на продукцию Ил-10 (противовоспалительного цитокина), что свидетельствует о противовоспалительном действии тиотриазолина [13].

Добавление в культуру клеток крови больных ПИГ с тиотриазолином витамина С хотя

Таблица 3.

Содержание про- и противовоспалительных цитокинов в культуре клеток крови (мононуклеаров) при культивировании с тиотриазолином и без него.

Культура клеток	Концентрация цитокинов, пг/мл			
	Количество проб	Ил-1	Количество проб	Ил-10
+ ТТ	12	11,5 (6-24)*	12	1,55 (0-3)
Без препарата	12	28,5 (12-42)	12	1,7 (0-4)

Примечание: здесь и далее в скобках указаны пределы колебаний значений (минимум-максимум). * – статистически значимо (p 0,05).

и способствовало снижению продукции Ил-1, однако не было отличным от действия самого тиотриазолина, а добавление только витамина С достоверно не снижало продукцию этого провоспалительного цитокина (рис. 5).

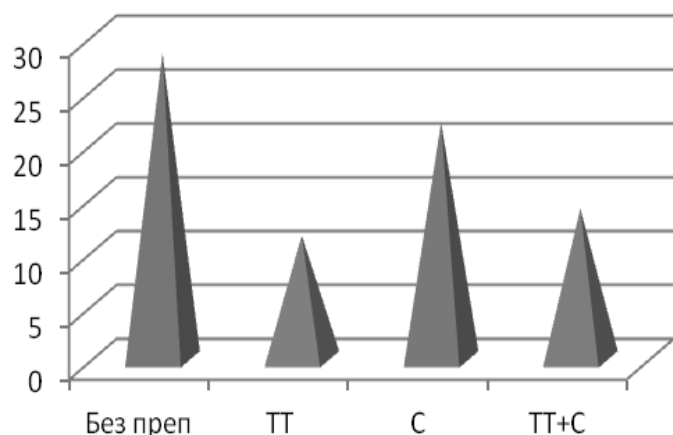


Рис. 5. Влияние тиотриазолина в сочетании с витамином С и без него на продукцию провоспалительного Ил-1 клетками крови больных ПИГ в культуре.

В таблице 4 представлены результаты изучения влияния тиотриазолина на продукцию клетками крови больных ПИГ Ил-4 и ИНФ-г.

Из представленных данных следует, что тиотриазолин достоверно повышал продукцию в культуре гамма интерферона и не влиял существенно на продукцию Ил-4, что может свидетельствовать, что под влиянием препарата происходит изменение в соотношении клеток Th1|Th2 в сторону формирования антибактериального иммунного ответа [4, 5].

Исходя из фундаментальных работ по изучению активности ЕЦК [9, 12, 17], свидетельствующих о том, что лимфоциты здоровых людей не нуждаются в дополнительной стимуляции различными препаратами, можно полагать, что у больных ПИГ имеется функциональная недостаточность в этом факторе врожденного иммунитета и назначение препа-

рата тиотриазолин в комплексном их лечении является целесообразным.

Выводы

Препарат тиотриазолин способен активировать механизмы антителопродукции и фагоцитарную активность клеток крови больных ПИГ при контакте их *in vitro*, что расширяет прежние представления об иммуномодулирующем действии препарата.

Усиление иммунологического потенциала клеточного состава структур носоглотки при ПИГ будет способствовать повышению эффективности лечения этого заболевания с применением иммуностропных средств нового поколения, каким является тиотриазолин.

Усиление активности факторов врожденного иммунитета (естественная клеточная цитотоксичность и фагоцитарная активность), которые являются первой линией иммунологической защиты, позволяет считать целесообразным местное применение препарата тиотриазолин при ПИГ.

Литература

1. Волошин Н. А. Перспективы применения нового иммуностропного препарата тиотриазолина / Н. А. Волошин, В. А. Малыжев, И. А. Мазур [и др.] // Тез. докл 1 Нац. конгресса Украины по иммунологии и аллергологии. – Алушта: 1998. – С.42.
2. Гублер Е. В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов / Е. В. Гублер. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
3. Григорьян А. С. Проблемы интеграции имплантов в костную ткань (теоретические аспекты) / А. С. Григорьян. – М.: «Техносфера», 2007.

Таблица 4.

Содержание интерлейкина-4 и гамма интерферона в культуре клеток крови больных ПИГ при культивировании с тиотриазолином и без него.

Культура клеток	Концентрация цитокинов, пг/мл			
	Количество проб	Ил-4	Количество проб	ИНФ-г
+ ТТ	12	3,5 (0-6)	12	18,55 (10-36) *
Без препарата	12	4,0 (0-7)	12	11,7 (0-4)

4. Дранник Г. Н. Иммуотропные препараты / Г. Н. Дранник, Ю. А. Гриневиц, Г. М. Дизиц. – Киев: Здоров'я, 1994. – 287с.
5. Демьянов А. В. Диагностическая ценность исследований уровней цитокинов в клинической практике / А. В. Демьянов, А. Ю. Котов, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2003. – т.2. – №3. – С.20-29.
6. Заболотный Д. И. Сравнительная оценка иммуномодулирующих влияний in vitro препаратов тиотриазолина и пирасетама / Д. И. Заболотный, О. Ф. Мельников, Н. А. Пелешенко // Журнал вушних, носових та горлових хвороб. – 2005. – №5. – С.69-70.
7. Заболотный Д. І. Обгрунтування місцевого застосування тиотриазоліну для лікування хронічного аденоїдиту у дітей /Д. І. Заболотний, О. Ф. Мельников, Е. В. Потапов, Л. П. Калиновська // Журнал вушних, носових та горлових хвороб. – 2001. – № 5 (д). – С.74-75.
8. Заболотный Д. І. Аутокоїдні медіатори запалення і патогенетичне обгрунтування лікування хворих на гострий та хронічний гайморит / Д. І. Заболотний, О. Г. Плаксивий, О. Кухарчук // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. – 1997. – №2. – С.1-7.
9. Красий Р. И. Клинико-экспериментальное обоснование применения новых иммуномодуляторов типа фенилимидазотиазола у больных раком гортани : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук : спец. 14.00.04 / Р. И. Красий. – Киев, 1989. – 155с.
10. Лайко А. А. Аденоїдит / [А. А. Лайко, Д. І. Заболотний, В. В. Березнюк, Д. Д. Заболотна та ін.] – Київ : Логос, 2010. – 177 с.
11. Мельников О. Ф. Современные подходы к консервативной терапии хронического тонзиллита. / О. Ф. Мельников, Д. Д. Заболотная. – Киев, 2012. – 80 с.
12. Мельников О. Ф. Влияние in vitro различных иммуномодуляторов на функциональное состояние лимфоцитов и фагоцитов крови больных рецидивирующим наружным отитом / О. Ф. Мельников, С.В. Тимченко, Т.Ю. Панченко [и др.] // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2011. – №3с. – С. 154.
13. Потапов Е.В. Клініко-експериментальне обгрунтування локального застосування тиотриазоліну у лікуванні дітей хворих на хронічний аденоїди : автореф. дис. на здобуття наук. степеня канд. мед. наук : спец. 14.01.19 / Е. В. Потапов. – К., 2003. – 20 с.
14. Троян В. И. Влияние операционного стресса на иммунологические показатели у больных раком гортани / В. И. Троян, О. Ф. Мельников, Н. О. Морозова // Журнал вушних, носових та горлових хвороб. – 2001. – № 1. – С. 40-42.
15. Хаитов Р. М. Иммуномодуляторы : механизм действия и клиническое применение / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2003. – № 4. – Т. 24. – С. 196-203.
16. Хаитов Р. М. Иммунотерапия: руководство / Под ред. акад. РАН Р.М. Хаитова, проф. Р. И. Атауллаханова. – М.: ГЭОТАР. – Медиа, 2012. – 672 с.
17. Brandtzaeg P. Immunology of tonsils and adenoids / P. Brandtzaeg // Intern.J. Pediatric Otorhinolaryngology. – 2003.– Vol. 6751. – P. 569-576.
18. Melnykov O. The concept of diagnosing secondary immunodeficiency states based on determination of immunoglobulins in the secretions / Melnykov O., Zabolotny D. // Intern. Journal on Immunorehabilitation. – 2004. – №2. – P. 235.

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ
ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ИММУНОТРОПНЫХ СРЕДСТВ
ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ
ПОСТИМПЛАНТАЦИОННЫМ
ГАЙМОРИТОМ**

*М.Б. Пионтковская, О.Ф. Мельников,
А.Н. Друмова*

Постимплантационный гайморит (ПИГ) развивается как следствие внутрикостного дентального протезирования альвеолярного отростка верхней челюсти и наряду с местным асептическим воспалением развивается значимый местный иммунологический конфликт. Проведено исследование влияния локальной иммунофармакотерапии при лечении ПИГ.

Цель – определить влияние иммуотропных препаратов – тиотриазолина, витамина С – на продукцию клетками крови больных с ПИГ про- и противовоспалительных цитокинов, иммунорегуляторных цитокинов и факторов врожденного иммунитета (активность естественных цитотоксических клеток и фагоцитов).

Выводы. Усиление активности факторов врожденного иммунитета, которые являются

первой линией иммунологической защиты, позволяет считать целесообразным местное применение препарата тиотриазолин при ПИГ.

Ключевые слова: постимплантационный гайморит, локальная иммунофармакотерапия, врожденный иммунитет.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ІМУНОТРОПНИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ПОСТІМПЛАТАЦІЙНИЙ ГАЙМОРИТ

*М.Б. Піонтковська, О.Ф. Мельников,
А.М. Друмова*

Постімплантационний гайморит (ПІГ) розвивається як наслідок внутрішньокісткового дентального протезування альвеолярного відростка верхньої щелепи і поряд з місцевим асептичним запаленням розвивається значний місцевий імунологічний конфлікт. Проведено дослідження впливу локальної іммунофармакотерапії при лікуванні ПІГ.

Мета – визначити вплив імунотропних препаратів – тиотриазоліну, вітаміну С – на продукцію клітинами крові хворих з ПІГ про- і протизапальних цитокінів, імунорегуляторних цитокінів і факторів вродженого імунітету (активність природних цитотоксичних клітин і фагоцитів).

Висновки: Посилення активності факторів вродженого імунітету, які є першою лінією імунологічної захисту дозволяє вважати за доцільне місцеве застосування препарату тиотриазоліну при ПІГ.

Ключові слова: постімплантационний гайморит, локальна іммунофармакотерапія, вроджений імунітет.

THE EXPERIMENTAL GROUNDING OF IMMUNOMODULATORY AGENTS APPLICATION IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH POST-IMPLANTATION SINUSITIS

*M.B. Piontkovskaya, O.F. Melnikov,
A.N. Drumova*

A post-implantation sinusitis (PIS) develops as a consequence of the intraosseous dental implantation of the alveolar sprout of maxilla and a meaningful local immunological conflict develops along with the local aseptic inflammation. The research on the influence of the immunopharmacotherapy treatment of PIS had been conducted.

Purpose – to determine the influence of the immunomodulatory drugs - tiotriazolin, vitamin C on PIS patients' blood cell production of the pro- and anti-inflammatory cytokine, immunoregulatory cytokine and factors of innate immunity (activity of natural cytotoxic cells and phagocytes).

Conclusion. The strengthening of activity factors of innate immunity (natural cellular cytotoxicity and phagocytes activity), that are the first line of immunological defence, allows to deem it wise local application of tiotriazolin at PIS.

Key words: post-implantation sinusitis, local immunopharmacotherapy, innate immunity.

Патенти

СПОСІБ УЛЬТРАЗВУКОВОЇ ДІАГНОСТИКИ ГЛИБИНИ ОПІКІВ

100841; Козін Ю.І., Кравцов О.В., Єфіменко С.Г.

Спосіб ультразвукової діагностики глибини опіків, який включає забезпечення хірургічного доступу в глибокі шари опікового струпу і доплерівське дослідження мікроциркуляторного русла в тканинах, що його оточують, на етапі опікового шоку. Оцінку глибини опікового ураження проводять в ультразвуковому діапазоні, поетапно, а саме: на першому етапі досліджують магістральний кровотік в артеріях судин, що забезпечують кровопостачання зони опіку, обчислюють середні значення його лінійних та об'ємних показників, порівнюють їх з розрахунковими показниками і, якщо вони дорівнюють чи нижче останніх, діагностують наявність в зоні опіку глибокого ураження і виконують декомпресійну некротомію цього ураження. На другому етапі кризь некротомні розрізи проводять енергетичне ультразвукове доплерівське дослідження мікроциркуляторного русла підопікових вторинноушкоджених тканин, в тих самих некротомних розрізах визначають їх щільність та розраховують їх еластометричні індекси і при значеннях останніх в межах 15-40 кПа діагностують зону гемодинамічних порушень, при значеннях в межах 45-75 кПа діагностують зону паранекрозу, а більше 80 кПа - зону коагуляції.