

Міністерство охорони здоров'я України
Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

**Реферат на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук асистента кафедри ЛОР хвороб**

Дмитренко Ігоря Васильовича

на тему:

**"КОМПЛЕКСНЕ ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА СКЛЕРОМУ ІЗ
ЗАСТОСУВАННЯМ РАДОНОВОЇ ВОДИ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ"**

14.01.19 - оториноларингологія

Наукові керівники:

- доктор медичних наук,

професор Кіщук Василь Васильович

- доктор медичних наук,

професор Мельников Олег Феодосійович

ВІННИЦЯ

2009

Загальна характеристика роботи

Актуальність теми. Склерома відноситься до групи істинних хронічних інфекційних хвороб людини, характеризується вираженими проліферативними змінами в слизовій оболонці верхніх дихальних шляхів (ВДШ). Збудником хвороби є клебсієла склероми (бактерія Фріша-Волковича), яка локалізується внутрішньоклітинно і довгий час залишається в організмі людини. Серед багаточисленних особливостей клініки захворювання найбільший інтерес представляють: довготривалий інкубаційний період, повільний розвиток та ремітуючий перебіг, висока питома вага безсимптомних та стертих форм захворювання, чітка локалізованість патологічного процесу, висока резистентність до терапевтичних заходів лікування. Ці особливості, а також значна втрата працездатності хворих, що нерідко приводить до інвалідизації, роблять склерому досить актуальною проблемою як в медичному так і соціальному плані. Сучасні дані про склерому базуються на численних спостереженнях та дослідженнях, що дало змогу достатньо вивчити клініку, мікробіологію, патологічну морфологію цього захворювання, однак питання патогенезу та патогенетичної терапії є актуальними і на сьогоднішній день. Особливу увагу слід приділяти імунологічним змінам в організмі хворих, так як механізми які визначають резистентність людини до склеромної інфекції досліджені недостатньо. Провідна роль в забезпеченні резистентності верхніх дихальних шляхів належить механізмам локального захисту слизової оболонки (М. С. Плужніков, Г. В. Лавретнева, 1990). Сучасними науковими працями встановлено, що імунна система слизової оболонки є особливим і самостійним компонентом імунної системи організму і забезпечує не тільки локальний захист, але й бере активну участь в імунорегуляторному процесі загалом (Горо Мого, 2000). Н. Н. Naumann (1980) виділяє неспецифічні (лізоцим, інтерферон, комплемент, мукоциліарна транспортна система, сироваткові і тканинні інгібітори протеаз та інші) і специфічні (сенсibiliзовані Т і В лімфоцити, Іg класів А, G, М, Е) фактори захисту слизової, завдяки яким досягається усунення чужерідних агентів. Значну роль у виникненні та розвитку хронічного запалення ВДШ відіграє стан імунологічної реактивності організму. За певних умов місцеві і системні імунологічні механізми можуть стати недостатньо ефективними, в результаті чого настають різноманітні зміни (Д. И. Заболотний, 1989), що призводить до хронізації процесу.

Причини цього явища залишаються невідомими. Найбільш вірогідний вплив персистенції антигену обумовлений перш за все недостатньою його елімінацією. I. Brook (1985) вважає, що провідну роль відіграє антигенне перевантаження, яке здатне блокувати клітинний імунітет у відповідь на інфікування чи розвиток специфічної толерантності. Депресія клітинного імунітету може бути пов'язана з якісними особливостями інфекційного фактору збудника.

Дані літератури вказують, що при хронічних процесах слизової оболонки ВДШ порушуються практично всі ланки як місцевого так і гуморального імунітету (Д. И. Заболотний, Л. И. Волосевич, 1985; N. Nishimoto et al., 1988). Це дефіцит IgA, M, O, особливо sIgA; підвищення вмісту IgE, зниження титру комплементу, концентрації Т-лімфоцитів периферичної крові, активності фагоцитозу та інші.

Враховуючи ці дані, а також чітку специфічність локалізації патологічного процесу, представляється доцільним дослідити та довести сприятливий вплив імунокорегуючих засобів на слизову оболонку ВДШ при склеромі, та ввести їх у комплексне лікування цієї недуги.

З цією метою ми застосували радонову воду у вигляді інгаляцій і зрошування слизової оболонки ВДШ, та імуномодуючий препарат тіотріазолін. В даний час накопичений достатній експериментальний та клінічний матеріал по ефективній дії радонових процедур (И. И. Гусаров, 1974).

Вважається, що пряма та рефлекторна дія радону слугує пусковим механізмом, який налаштовує фізіологічні системи організму на якісно новий функціональний ритм, що зберігається ще довгий час після процедури. Ю. І. Бородін (1980), відмічає, що під впливом радону виникають зміни функції нейро-гуморальної адаптуючої системи, яка позитивно впливає на різні патогенетичні механізми: стимулює клітинну активність (Grandpierre, 1979), стимулює еритропоез та фагоцитарну активність лейкоцитів (О. Ю. Волкова, 1962), підвищує рівень кортикостероїдів у сироватці крові (Paletta, 1979), підсилює імунобіологічну реактивність організму, нормалізує обмінні процеси.

Беручи до уваги той факт, що розвиток запальних захворювань ВДШ виникає внаслідок імунологічної недостатності загального і, особливо, місцевого характеру, все ширше отримує застосування локальна імунофармакотерапія. Основним напрямком її є

використання препаратів з найменшою кількістю негативних впливів і великим спектром терапевтичної дії на структурні основи імунітету слизової оболонки (О. Ф. Мельников и соавт. 1999). В зв'язку з цим пошук ефективних препаратів для локальної імуномодуляції, та успішної терапії хворих з запальними захворюваннями ВДШ залишається відкритим актуальним завданням експериментальної та клінічної оториноларингології.

В останні роки в Україні синтезований препарат тіотріазолін, який має виражені властивості мембранокоректора з гепатотропними та імуномодулюючими властивостями (Н. А. Волошин, 1998).

Згідно інструкції затвердженої фармакологічним комітетом МОЗ України в 1994 році, тіотріазолін – синтетичний гепатопротекторний та імуномодулюючий препарат який володіє протиішемічними, мембраностабілізуючими та антиоксидантними властивостями. Він здатний активувати механізми антитіло продукції та фагоцитарної активності клітин піднебінних мигдаликів при обробці їх *in vitro* (О. Ф. Мельников, Д. И. Заболотний, Е. В. Потапов, 2002).

Отже, з метою удосконалення комплексного патогенетичного лікування склероми, яке включає антибактеріальну, протизапальну, регенеративну, хірургічну терапії, нами запропоновано застосувати радонову воду та сучасний імунокорегуючий препарат - тіотріазолін.

Мета дослідження. Підвищити ефективність лікування хворих на склерому шляхом розробки та патогенетичного обґрунтування нового комплексного методу терапії з використанням радонової води та сучасного вітчизняного імуномодулятора – тіотріазоліну.

Завдання наукового дослідження.

1. Провести клінічне обстеження хворих на склерому в динаміці з використанням бактеріологічних, імунологічних, мікроскопічних та допоміжних методів досліджень з метою вивчення питань патогенезу.

2. Дослідити і порівняти показники гуморального та місцевого імунітету у склеромних хворих із застосуванням радонової води та тіотріазоліну до лікування, одразу після та у віддаленому періоді, і здорових людей.

3. Проаналізувати показники мукозального імунітету у хворих в залежності від форми склероми .
4. Довести ефективність радонової води та тіотріазоліну в експерименті, як *in vivo*, так *in vitro*.
5. Розробити, патогенетично обґрунтувати схему комплексного лікування хворих на склерому із застосуванням радонової води та тіотріазоліну та впровадити в клінічну практику.
6. Дати об'єктивну оцінку терапевтичної ефективності розробленого нами патогенетичного методу комплексного лікування склероми.

Об'єкт дослідження: хронічні запальні процеси дихальних шляхів у хворих на склерому та вплив радонової води і тіотріазоліну на перебіг хвороби.

Предмет дослідження: ротоглотковий секрет, кірки, інфільтрат, слизова оболонка, периферична венозна кров.

Способи та методи дослідження.

В основу роботи покладені дані спостереження при лікуванні хворих на склерому, а також дані експериментальних досліджень.

Комплекс обстежень при спостереженні буде включати: ендоскопічне, клініко - лабораторне дослідження, вивчення функціонального стану слизової оболонки ВДШ, морфологічних змін (гістологія, цитограми — відбитки слизової ротоглотки), мікроскопія осаду ротоглоткового секрету, імунологічне дослідження (рівні сироваткових Ig, показники мукозального імунітету - sIgA, G, імунні комплекси та ін.).

Дослідження проводились до та одразу після, і через 6-12 міс. після лікування радоновою водою та тіотріазоліном, як методів монотерапії, а також при їх застосуванні в комплексному патогенетичному лікуванні хворих на склерому.

Практичне значення роботи.

1. У обстежених хворих на склерому виявлене виражене зниження функціональних показників слизової оболонки ВДШ таких як: електрорушійної сили, транспортної активності миготливого епітелію, підвищення злущування

епітеліальних клітин із тенденцією до нормалізації їх після лікування.

2. Для оцінки ефективності лікування хворих на склерому слід звертати увагу на стан мукозального імунітету, особливо на співвідношення секреторної та мономерної форми IgA.

3. Доведена недостатність гуморальних факторів захисту слизової оболонки у хворих на склерому, насамперед секреторного IgA, як найважливішого компонента специфічного захисту слизової оболонки ВДШ, антиген зв'язуюча активність якого в сотні разів перевищує подібні властивості мономерної форми імуноглобуліну А.

4. Підвищений рівень IgG та імунних комплексів свідчить про імунопатологічні механізми підтримування запального процесу у хворих на склерому, і розглядається як патогенетичний фактор підтримування хронічного запалення в слизовій оболонці ВДШ.

5. Застосування радонової води у склеромних хворих приводить до покращення функціональних показників слизової оболонки ВДШ.

6. Після проведеного радонолікування відмічається достовірне підвищення концентрації sIgA в змішаній слині. Виявлена тенденція до зниження концентрації mIgA, IgG та імунних комплексів до показників як у здорових людей, що є прогностично благоприємною ознакою та об'єктивним показником ефективності радонотерапії.

7. Виявлена залежність зміни показників функціонального стану слизової оболонки ВДШ та мукозального імунітету у відповідності до форми склероми.

8. Клінічні та об'єктивні методи дослідження показали, що застосування місцевих імунокоректорів має позитивний вплив на імунологічний та функціональний стан слизової оболонки ВДШ у хворих на склерому, та може оцінюватись як фактор патогенетичної терапії.

9. Розроблений та впроваджений в практику комплексний патогенетичний метод терапії склероми із використанням радонової води та тіотриазоліну, що дозволить підвищити ефективність лікування.

Наукова новизна:

1. Вперше досліджується мукозальний імунітет при склеромі з урахуванням сучасних даних про імунітет.
2. Досліджений вміст основних показників місцевого імунітету (slgA, G, імунні комплекси) в ротоглотковому секреті хворих на склерому.
3. Виявлена залежність вмісту деяких показників місцевого імунітету слизової оболонки ВДШ від клінічної форми склероми.
4. Введена в комплексне патогенетичне лікування склероми радонотерапія та тіотриазолін з метою імуностимуляції та імунореабілітації.
5. Доведена клінічна ефективність та необхідність місцевої імунокорекції у комплексному лікуванні хворих на склерому і розглядається, як один із факторів патогенетичної терапії недуги.
6. Вперше експериментально обґрунтовано застосування родонової води та тіотриазоліну з імуномодулюючою метою у хворих на склерому.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 9 наукових праць, у тому числі 4 статті у фахових науково-практичних виданнях, внесених до переліку ВАК України; 5 тезисів у матеріалах конференції, отримано 2 патенти України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 161 сторінці друкованого тексту та складається з вступу, огляду літератури, 5-ти розділів власних досліджень, заключення, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел - 246 найменувань, в тому числі 76 іноземних. Робота ілюстрована 27-ма таблицями та 12-ма рисунками та список використаних джерел містить

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ.

Матеріали та методи дослідження. Представлені матеріали даної роботи були отриманні при обстеженні та лікуванні 112 хворих на склерому різними клінічними формами, які були поділені на 2 однорідні групи за статтю, віком, формами та давністю захворювання. Пацієнтам 1-ої (основної) групи проводилось комплексне лікування із застосуванням родонової води та тіотриазоліну. Хворі 2-ої (контрольної) групи отримували традиційне

досі існуюче лікування без зазначених засобів. Крім того, для клініко-імунологічних досліджень було залучено 15 практично здорових донорів та були відібрані дві групи пацієнтів, яким застосовувалась комплексна терапія окремо з радоновою водою та окремо з тіотріазоліном.

З експериментальною метою було використано 60 щурів Вістар, які утримувались в умовах віварію ВНМУ ім. М.І.Пирогова. Перша серія тварин була використана для дослідження клітинної і гуморальної імунної відповіді на антигени стафілококу, друга – для вивчення впливу експериментальної терапії на фактори вродженого імунітету.

Визначення імуномодуючих властивостей радонової води та тіотріазоліну при роздільному та сумісному використанні було проведено на групах імунодефіцитних тварин – щурів Вістар, які були оброблені циклофосфаном в дозі 40 мг/кг маси за добу до початку застосування лікувальних засобів.

З лікувальною метою застосовувалась вуглекисло-радонова вода Хмільницького санаторію „Радон“, яка за зовнішніми ознаками має жовтуватий колір, прозора, без запаху, дещо солоня на смак. Відноситься до слабо мінералізованої – радоново-вуглекисло-гідрокарбонатно- хлоридно- кальцієво-натрієвої води.

Методика лікування.

Щоденно, ранком та ввечері хворим на склерому проводилось промивання порожнини носа та глотки радоно-вуглекислою водою курорту Хмільник протягом 5 хвилин із попереднім підігрівом її до 38-40 °С. Тепловоліг інгаляції проводились 2 рази в день через ніс та рот при температурі 38-40 С протягом 15 хвилин на стаціонарному інгаляторі АІ-1 зранку та ввечері. Курс лікування -15 днів.

Комплексне лікування хворих на склерому, яке проводилось в клініці, включало: антибактеріальну терапію (амікацин, цефтріаксон, ціпрінол), лідазу, алое, вітаміни групи В, А, С, Е, тіотріазолін, дилатаційні методи лікування, кріо та гальванохірургія при рубцевих формах захворювання, інгаляції радонової води та протеолітичних ферментів.

Результати лікування враховувались за клінічним перебігом склеромного процесу, суб'єктивним відчуттям хворих, загальним лабораторним показникам (ЗАК, ЗАС), біохімічними даними (глюкоза, холестерин, білкові фракції, білірубін, АЛТ, АСТ, с реактивний білок); додатковими методам дослідження (ЕКГ, УЗД серця, печінки,

нирок, ринопневмотахометрії та ін.).

Отримані дані досліджень порівнювались до та одразу після лікування у всіх хворих, а також через 6-12 місяців.

Тіотриазолін вводився в/м 2,5% - 2 мл 2 р/д протягом 15 діб.

Імунологічні методи досліджень

При проведенні імунологічних досліджень користувалися рекомендаціями 1 Національного конгресу імунологів і алергологів (Алушта 1998), рекомендаціями ряду авторів за оцінкою імунного статусу людини (К.А. Лебедев, І.Д. Понякина,1990;2003; В.Г. Передерій і співавт.,1995; О.Ф. Мельников і співавт.,1998; О.Ф. Мельников, Д.І. Заболотний,2001,2003).

1. Визначення числа Т і В- лімфоцитів в крові.
2. Визначення функціональної активності лімфоцитів крові .
3. Визначення функціональної активності НК крові
4. Дослідження рівня сироваткових імуноглобулінів, секреторної і мономірної форм імуноглобуліну А в ротоглотковому секреті
5. Визначення циркулюючих імунних комплексів в сироватці крові
6. Дослідження фагоцитарної активності нейтрофілів крові
7. Визначення чутливості Т лімфоцитів і ПЦК до імуномодуляторів in vitro
8. Цитохімічні дослідження формених елементів крові
9. Дослідження вмісту мастафінних лімфоцитів
10. Дослідження рівня антитіл до мікробних антигенів у сироватці крові
11. Визначення числа FcR+ клітин в периферичній крові тварин
12. Дослідження вмісту лактоферину і цитокінів в крові і ротоглотковому секреті
14. Визначення загального IgE в сироватці крові
15. Дослідження сенсibiliзації лімфоїдних клітин до мікробних антигенів по продукції цитокіна типу MIF

Інші лабораторні методи

1. Мікробіологічні дослідження.
2. Морфологічні методи.
3. Визначення мікроелементів в сироватці крові.

Допоміжні методи

1. Метод моделювання імунодефіцитного стану.
2. Статистичні і аналітичні методи.

Використовувалися наступні препарати в клініці і експерименті:

ТИМАЛІН – екстракт тимусу великої рогатої худоби, ліофілізована суміш по 10 мг у флаконі виробництва Біомед (Росія), застосовувався у вигляді розчину для ін'єкцій в дозах аналогічних поліоксидонію;

ТИМОГЕН – синтетичний низькомолекулярний препарат у вигляді 0,01% розчину виробництва ВАТ Дніпрофарм (Україна), використовувався в аналогічних дозуваннях як і попередні препарати.

ЦИКЛОФОСФАН – препарат цитостатичної дії у вигляді сухої солі, розчинявся фізіологічним розчином хлористого натрію, вводився для створення хімічного індукованого імунодефіциту у тварин в дозі 40 мг / кг маси, як це рекомендовано в роботі Р.І. Красія (1989).

Клінічні методи дослідження: загально-клінічні, функціональні, біохімічні.

Результати дослідження та їх обговорення. Обстежено та проліковано 112 хворих на склерому з різними формами віком від 16 до 73 років з них 67 жінок та 45 чоловіків. Давність хвороби до 5 років визначалась у 7 (6,3 %) хворих, від 5 до 10 років – 16 (14,3 %) хворих, більше 10 років 89 (79,4 %).

Основними клінічними симптомами у хворих на склерому були виявлені: сухість слизових оболонок дихальних шляхів, прогресуюча охриплість голосу, утруднення дихання , кашель, загальна слабкість. З об'єктивних проявів у більшості пацієнтів відмічались: наявність сухих кірок або густого гнійного секрету в порожнині носа, рубцеві

звуження та інфільтрати присінку носа, хоан, м'якого піднебіння, підскладкового простору гортані та трахеї особливо в області біфуркації.

В результаті клінічного спостереження та обстеження хворих на склерому при застосуванні тіотріазоліну та радонової води місцево у комплексному лікуванні виявлено позитивну суб'єктивну та об'єктивну симптоматику. А саме: хворі відмічають покращення самопочуття, апетиту, значно полегшується виділення в'язкого слизу та кірок при кашлі, зникає специфічний запах, покращується зовнішнє дихання, зменшується сухість слизової ВДШ, що поліпшує якість життя пацієнтів. При паспортизації дихальних шляхів звертає на себе увагу позитивна динаміка стану слизової оболонки ВДШ, яка відновлює свій колір та функціональну здатність, значно зменшується кількість кірок в порожнині носа та підскладковому просторі гортані, зменшуються і стають більш плоскими інфільтрати. Слід відмітити, що тенденція позитивних змін була більша у хворих з переважно атрофічною та інфільтративною формами склероми.

Загальноклінічні та біохімічні лабораторні дослідження, які були виконані хворим на склерому перед призначенням лікування, вказують на наявність запального процесу особливо у осіб з переважно інфільтративною формою давність захворювання у яких до 5 років. Більш виражені біохімічні порушення спостерігаються у пацієнтів з переважно рубцевою формою, які хворіють на недугу 10 і більше років, що можливо пов'язано із довготривалою інтоксикацією та кисневою недостатністю, які призводять до дегенеративних змін в усіх органах та системах організму. Особливо необхідно відмітити відхилення від норми таких показників як білірубін, загальний білок, холестерин, Na^+ , K^+ .

Після лікування хворих на склерому із застосуванням радонової води відмічалась позитивна динаміка показників обміну речовин, особливо у пацієнтів із переважно інфільтративною формою і давністю хвороби до 5 років.

Додаткові методи дослідження (ЕКГ, УЗД, ЕЕГ, МРТ) вказують на наявність дегенеративних процесів різного ступеню у внутрішніх органах: печінка, підшлункова залоза, нирки, серце - практично у всіх хворих на склерому. Особливо виражені зміни у хворих рубцевою формою із давністю захворювання більше 10 років.

У 21 хворого на склерому супутньою патологією було виявлено хронічний гастрит, у 14 — ішемічна хвороба серця (ІХС), гіпертонічна хвороба різних стадій, у 10 -

хронічний холецистито-панкреатит, у 34 пацієнтів -хронічний обструктивний бронхіт, емфізема легень різної вираженості .

Застосувавши радонову воду та тіоттріазолін при лікуванні хворих виявлено зменшення клінічної симптоматики хронічного холецисто-панкреатиту у 8 хворих з різними формами склероми та нормалізації тиску і ЕКГ картини у 11 пацієнтів із ІХС, гіпертонічною хворобою; значно покращились показники ЖЕЛ, пневмотохомерії у осіб з хронічним обструктивним бронхітом. Так ЖЕЛ в середньому складає $74,9 \pm 1,8\%$ до лікування та $80,1 \pm 1,7\%$ ($P < 0,05$) після лікування. Об'єм форсованого видиху (ОФВ) з $71,4 \pm 2,1\%$ підвищувався до $76,4 \pm 1,8\%$ ($P < 0,05$), практично у всіх хворих зменшена хвилинна вентиляція легень (ХВЛ) $44,3 \pm 1,9\%$ та показник швидкості руху повітря (ПШРП) $14,4 \pm 0,5\%$ підвищувались до $53,4 \pm 1,7\%$ ($P < 0,05$) та $19,9 \pm 1,5\%$ ($P < 0,05$) відповідно. Показники пневмотохомерії (ПТМ) були також зниженні до 62 - 65% і покращились до $75 \pm 1,6\%$ ($P < 0,05$) У хворих контрольної групи показники функції зовнішнього дихання змінювались незначно.

Слід відмітити, що вище перераховані позитивні зміни спостерігались в більшій мірі при застосуванні радонової води та тіоттріазоліну у віддаленому періоді.

Висіваємість клебсієли склероми після проведеного запропонованого комплексного лікування знижується із 25% до 6% ($P < 0,05$), а у хворих які отримували традиційне лікування з 25% до 18% ($P < 0,05$). Можливо такі зміни є результатом активації факторів специфічного та неспецифічного імунітету при дії радону та тіоттріазоліну.

Під впливом проведеного лікування із застосуванням радонової води відмічається тенденція до зменшення кількості хворих з позитивною реакцією зв'язування комплементу (РЗК) із склеромним антигеном (з 32 до 18) та збільшується кількість хворих з негативною РЗК (з 11 до 24).

Важливим фактором в оцінці реактивності організму є як загальні параметри, включаючи кількісні параметри або активності ключових цитокінів, так і спеціальні, що розкривають більш глибокі механізми патогенезу захворювання та сприяють патогенетичному обґрунтуванню методів лікування.

У всіх хворих на склерому мали місце зміни у системному та місцевому імунітеті, які відображені в імунологічних показниках крові та ротоглотковому секреті.

Кількісна оцінка основних типів клітин імунітету.

Вміст Т і В-лімфоцитів оцінювали по відносній кількості лімфоцитів, які мають маркери CD 2 і CD 20 відповідно. Дані про вміст цих типів клітин у осіб контрольної групи і хворих склеромою представлені у табл. 1

Таблиця 1

Вміст Т- і В -лімфоцитів в периферичній крові хворих склеромою і осіб контрольної групи (відносний вміст, %).

Групи	N	CD 2	CD 20
Склерома	22	29,1* (16-42)	12,5(7-15)
Склерома атрофічна	36	30,1 * (28-42)	10,6(6-14)
Контроль	15	46,6 (39-60)	12,5(6-15)

Примітка : в дужках вказані межі коливань індивідуальних значень.

* - достовірно до контролю

Суттєві зміни у відносному кількісному вмісті Т-лімфоцитів в периферичній крові були виявлені у хворих з різними формами склероми в порівнянні із контролем. Що стосується рівня В-лімфоцитів, то їх кількість, незважаючи на коливання була на рівні контрольних значень.

Аналогічним чином визначались дані і по вмісту неспецифічних цитотоксичних клітин і моноцитів. Кількість CD 16 + клітин також була достовірно більш низькою у хворих на склерому, а кількість CD 14+ клітин (моноцити) в крові хворих різними формами склероми мали вектор змін в сторону збільшення цих груп клітин.

Дані по визначенню показників функціональної активності Т-лімфоцитів з ІВЛ- індексу взаємодії лімфоцитів у хворих на склерому досить знижена порівняно з контролем.

Активність ПЦК клітин крові у хворих із різними формами склероми

достовірно є більш низькою, чим у осіб контрольної групи у відношенні як інертних мішеней (еритроцити курчат), так і при використанні у якості мішеней пухлинних клітин К-562(табл. 2).

Таблиця 2

Активність природніх кілерів крові хворих на склерому при її різних формах і у практично здорових осіб.

	Активність деструкції мішеней, %			
	Еритроцити курчат		К-562	
Контроль	44,5	19-55	30,3	22-56
Інфільтративна форма	18,5*	10-33	14,8*	8-33
Атрофічна форма	16,7*	11,44	16,4*	11-23

Суттєвих змін при дослідженні фагоцитарної активності клітин крові хворих на склерому не виявлено по рівню фагоцитарного показника (табл. 3.), однак активність захвату латекса у хворих на склерому була знижена (фагоцитарний індекс), що свідчить про функціональну недостатність фагоцитів крові у хворих на склерому. Дослідження рівнів антитіл класів М, G, А, D, Е в сироватці крові хворих на склерому показало, що основні суттєві зміни у вмісті цих білків стосувались імуноглобулінів класів М, А і Е (табл. 4).

Таблиця 3.

Фагоцитарна активність клітин крові при різних клінічних формах у хворих на склерому

Захворювання	Число дослідів	Фагоцитарний показник	Фагоцитарний індекс
Контроль	15	77(42-94)	7,8(6-10)
Інфільтративна форма	22	85(60-96)	3,0(3-7)*
Атрофічна форма	36	71(42-89)	4,2(3-8)*

Вміст (г/л) імуноглобулінів різних класів у сироватці досліджених хворих

Групи	IgM	IgG	IgA	IgD
Контроль	1,2+-0,3	9,8+-3,1	1,3+-0,22	0,4+-0,11
Інфільтративна форма	2,9*+-0,3	10,8+-3,2	2,9+-0,33	0,2+-0,05
Атрофічна форма	1,9+-0,4	13,6+-4,1	2,8+-0,35	0,4+-0,03

Зміни вмісту імуноглобулінів стосувались великомолекулярних з'єднань, які є глобуліни класів М і А, концентрація цих білків в сироватці периферичної крові була підвищена при обох формах склероми.

Дослідили вміст у сироватці крові прозапальних цитокінів - інтерлейкіна 1, інтерлейкіна - 8, а також поліпотентного регуляторного медіатора - інтерферона - γ (IFN- γ) і інтерлейкіна 10 (ІЛ 10) як цитокіна з вираженою протизапальною дією. Отримані під час дослідження результати (табл. 5) свідчать про те, що порівняно із контролем в сироватці крові хворих на склерому у двох групах мають місце зниження концентрації IFN γ інтерлейкіна 1. В групі хворих на склерому з атрофічною формою виявлено достовірне зниження ІЛ-8. Вміст протизапального ІЛ-10 мало відрізнялось від контрольних значень.

Зниження рівня прозапальних цитокінів, які відіграють важливу роль у забезпеченні захисної реакції у вигляді запалення включаючи фактори вродженого імунітету (фагоцитоз і природній клітинний кілінг), свідчить про функціональну недостатність клітин-продуцентів цих медіаторів (А.С. Симбірцев, 2004). Виявлені відхилення у вмісті гамма-інтерферона, як основного антивірусного фактору і активатора клітинних реакцій імунітету доповнюють ці дані і підтверджують попередні результати імунологічних досліджень про те, що у хворих на склерому розвивається стан гіпоергії з формуванням вторинної імунної недостатності.

Концентрація ІЛ-1, ІЛ-8 і ІЛ-10 у сироватці крові хворих з різними формами склероми і осіб контрольної групи

Групи	Число досліджень	Концентрація цитокінів, ПКГ/мл		
		Інтерлейкін-1 β	Інтерлейкії-8	Ішерлейкін-10
Контроль	15	25,5+2,5	3,6+- 0,8	4,1 + 1,5
Склерома 1	22	11,2 +-3,1*	5,8 +-1.4	2,9 + 0.8
Склерома 2	36	14,2+-2,2*	0,4+-0,2*	3,1+-1,1

Склерома 1 - інфільтративна форма

Склерома 2 - атрофічна форма

Нами було проведене дослідження як загальних параметрів місцевого імунітету, так як рівень секреторної і мономерної форм ІgА і ІgG у ротоглотковому секреті, цитологічної його характеристики. Дані про рівень вмісту різних форм імуноглобуліну А і імуноглобуліну G у секреті ротоглотки хворих склеромою представлені в табл. 6.

Таблиця 6.

Концентрація різних імуноглобулінів в ротоглотковому секреті хворих на склерому

Групи	Число досліджень	Концентрація імуноглобулінів, г/л		
		SIgA	IgA	IgG
Контроль	15	1,2 +_ 0.2	0,2 +_ 0,02	0,05 +_ 0,01
Склерома 1	22	0,6+_ 0,1*	0,23+ 0,1	0,8+_ 0.15*
Склерома 2	36	6,25 +_ 0,2*	0,4+0,01	0.15 +_ 0,08

Склерома 1 - інфільтративна форма

Склерома 2 - атрофічна форма

Примітка : * - достовірність по відношенню до контролю в кожному класі імуноглобуліну.

Із даних, представлених в таблиці видно, що у хворих склеромою

достовірно знижений вміст секреторної і сироваткової (мономерної) форм імуноглобуліну А, а концентрація IgG була достовірно підвищена у групі із інфільтративною формою захворювання (0,05 г/л у контролі і 0,8 у хворих). Ці дані підтверджують думку ряду авторів про те, що такі кількісні перерозподілення у вмісті імуноглобулінів класу А відображають стан мукозального імунітету при інфекційно-запальних захворюваннях слизової оболонки і причиною цьому можуть бути підвищена активність гідролаз мікроорганізмів, або недостатня функціональна активність індуктивних зон, перш за все всього лімфоглоткового кільця, до якого відноситься і піднебінні мигдалики (В.П. Бикова, 1999; О.Ф. Мельников і співав., 2000; 2002; Д.І. Заболотний і співав.. 2001)

При сумарному обчисленні відхилень по вмісту секретного IgA у двох групах були отримані такі дані від 30 хворих на склерому в різних клінічних формах:

Відносна норма (0,5 - 0,8 г/л) = **13,3 %** ;

Нульові значення sIgA = **20,0 %** ;

Зниження рівня (< 0.5 г/л) = **66,7 %**.

Результати досліджень свідчать про те, що гуморальні фактори локального імунітету змінюються в сторону зниження специфічного гуморального захисту слизової, що сприяє прогресуванню запальних процесів, про що свідчить підвищення рівня в слині імуноглобулінів класу G.

Реакція бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) у обстежуваних хворих на склерому була достовірно знижена $54 \pm 1,6\%$ у порівнянні з нормою $70,1 \pm 1,2\%$ ($P < 0,05$). Після лікування із застосуванням радонових інгаляцій та тіотріазоліну РБТЛ збільшилась до $64,2 \pm 1,2\%$ ($P < 0,05$), у хворих які лікувались за традиційною схемою РБТЛ практично не змінювалась $51,2 \pm 1,24\%$ до $55,22 \pm 1,15\%$ ($P > 0,05$).

При цитохімічних дослідженнях в цитоплазмі гранулоцитів периферійної крові виявлено достовірне зменшення вмісту глікогену та ліпідів, а також активність пероксидази. Середній цитологічний показник (СЦП) їх складав $1,82 \pm 0,05$ (при $N 2,55 \pm 0,01$); $1,74 \pm 0,02$ ($P < 0,02$) (при $N 2,44 \pm 0,01$); $1,76 \pm 0,02$ (при $N 2,45 \pm 0,02$) відповідно,

до лікування, та $2,13 \pm 0,03$ ($P < 0,05$), $1,92 \pm 0,02$ ($P < 0,01$); $1,91 \pm 0,02$ ($P < 0,05$) відповідно, після запропонованого комплексного лікування. В той же час у хворих яким проводилась традиційна терапія склероми ці показники майже не змінювались.

Функціональні особливості слизової оболонки у хворих на склерому

В процесі обстеження було виявлено, що ЕРС слизової оболонки глотки у хворих з переважно атрофічною і рубцевою формами склероми значно понижена і складає $9,49 \pm 0,78$ мВ і $9,51 \pm 0,86$ мВ / $P < 0,001$ / проти $29,82 \pm 0,27$ мВ у здорових людей, у хворих з переважанням інфільтративного процесу, цей показник також знижений проти норми і складає $10,75 \pm 0,70$ мВ / $P < 0,001$

Після проведеного комплексного лікування з використанням інгаляцій та промивань радоною водою та тіотріазоліну спостерігається деяка нормалізація цього показника. Так у хворих з переважно атрофічною формою склероми ЕРС піднялась з $9,49 \pm 0,78$ мВ до $12,55 \pm 0,82$ мВ / $P < 0,01$ /, а у хворих з переважанням рубцевих і інфільтративних процесів в дихальних шляхах ЕРС також підвищилась з $9,51 \pm 0,86$ мВ до $11,47 \pm 0,85$ мВ, і з $10,75 \pm 0,70$ мВ до $13,07 \pm 0,86$ мВ, однак це підвищення статистично не достовірне / $P > 0,05$ /.

Із наведених даних видно, що транспортна активність мерехтливого епітелію слизової оболонки глотки у хворих з переважно інфільтративною і рубцевою формами склероми значно понижена і складає $31,59 \pm 2,29$ хв. і $35,5 \pm 1,38$ хв. / $P < 0,001$ / проти $10,00 \pm 0,31$ хв. у здорових людей, а у хворих з переважанням атрофічних процесів в дихальних шляхах цей показник більш ніж в 3,5 раза понижений проти норми і складає $38,52 \pm 1,30$ хв.

Після проведеного комплексного лікування з використанням радонової води та тіотріазоліну спостерігається тенденція до нормалізації цього показника. Так у хворих з переважно інфільтративною формою склероми транспортна активність мерехтливого епітелію покращилась з $31,59 \pm 2,29$ хв. до $23,00 \pm 1,77$ хв. / $P < 0,01$ /, у хворих з переважно рубцевою формою з $35,5 \pm 1,38$ хв. до $28,82 \pm 1,91$ хв. / $P < 0,01$ /. Більш суттєва нормалізація цього показника була відмічена у хворих з переважанням атрофічних процесів в дихальних шляхах і досягла в середньому $26,84$

+ 1,30 хв. проти 38,52 +- 1,30 хв. до лікування.

Отже кількість клітинних елементів в мазках-відбитках у хворих з різними формами склероми значно підвищена у порівнянні із здоровими людьми. Так у хворих з переважно інфільтративною формою склероми вона складає 25,59 +- 3,89 / $P < 0,001$ / проти 4,30 +- 0,4 у здорових людей, у хворих з переважанням атрофічного і рубцевого процесів в дихальних шляхах цей показник дещо нижчий і складає 23,36 +- 1,92 і 23,39+-2,15 / $P < 0,001$ / , більш ніж в 5 разів перевищує норму.

Після проведеного комплексного лікування з використанням радонової води та тіотріазоліну спостерігається деяка нормалізація клітинних елементів в мазках-відбитках.

Більш суттєва нормалізація цього показника була відмічена у хворих з переважно атрофічною формою склероми і складала 17,89 +- 1,27 проти 23,36 +- 1,92 до лікування / $P < 0,05$ / .

Отримані результати не дозволяють відповісти на питання про роль радонової води, як самостійного фактора в комплексному лікуванні хворих склеромою. З цією метою проведені дослідження функціонального стану слизової оболонки у 30 хворих із переважно атрофічною формою склероми, які лікувалися тільки інгаляціями радонової води.

За даними дослідження виявлено, що у хворих, яким проводилось лікування інгаляціями радонової води ЕРС слизової оболонки глотки різко знизилась і становить 7,99 +- 0,18 мВ проти 29,82 +- 0,27 у здорових людей.

Після лікування цієї групи хворих інгаляціями радоновою водою ЕРС слизової оболонки підвищилась з 7,99 +- 0,18 мВ до 9,35 +- 0,22 мВ / $P < 0,001$ /

Транспортна активність епітелію слизової оболонки глотки у хворих які були досліджені, також значно знижена і складає 35,71 +- 0,81 хв. при 10,0 +- 0,31 хв. у здорових людей / $P < 0,001$ / .

Після проведеного лікування інгаляціями радоновою водою спостерігається тенденція до нормалізації ТАЕ - час переміщення вугільного порошка із носоглотки в ротоглотку зменшилося з 35,71 +- 0,81 хв. до 31,54+- 1,00 хв./ $P < 0,01$ / .

Кількість клітинних елементів в мазках-відбитках із слизової оболонки задньої

стілки глотки хворих склеромою значно підвищена, якщо порівнювати із здоровими людьми і становила $22,07 \pm 1,35$ проти $4,3 \pm 0,43$ в нормі /P 0,001 /.

В результаті проведеного лікування інгаляціями радоною водою кількість клітинних елементів в мазках-відбитках зменшилась з $22,07 \pm 1,35$ до $18,31 \pm 0,84$ /P0,05/.

Таким чином, в результаті застосування інгаляцій радоною водою, здобуті статистичні достовірні показники покращення функціонального стану слизової оболонки дихальних шляхів в оглянутих хворих.

Однак, тенденція до нормалізації показників функціонального стану слизової оболонки дихальних шляхів була більш виражена у хворих, яким проводились інгаляції радоною водою в комплексі із іншими лікувальними заходами.

Основним критерієм ефективності проведеного лікування являється віддалені результати. Нами вивчені показники функціонального стану слизової оболонки дихальних шляхів у хворих склеромою через один рік після проведеного комплексного лікування з використанням інгаляцій радоною води та тіотріазоліну. В результаті отриманих даних можна судити про те, що через 1 рік після проведеного першого курсу лікування показники функціонального стану слизової оболонки глотки незначно знизились порівняно з тим, які спостерігались по закінченню першого курсу лікування, але були більш високі, ніж початкові до початку 1-го курсу лікування /.

Так при поступленні на повторний курс лікування ЕРС слизової оболонки глотки складала $11,74 \pm 1,02$ мВ, ТАЕ - $27,10 \pm 0,97$ хв., кількість клітинних елементів - $17,50 \pm 3,25$ і $9,52 \pm 1,00$ мВ, $33,77 \pm 2,16$ хв., $22,00 \pm 5,63$ при поступленні на 1-й курс лікування цих же хворих.

Після проведеного повторного курсу лікування ЕРС піднялась з $11,74 \pm 1,02$ мВ до $15,17 \pm 1,13$ мВ / P 0,05 /, ТАЕ покращилась з $27,10 \pm 0,97$ хв. до $22,80 \pm 0,97$ хв. / P 0,05 /, кількість клітинних елементів в мазках-відбитках зменшилась з $17,50 \pm 3,25$ до $12,80 \pm 3,03$ /P 0,05/.

Необхідно відмітити, що показники функціонального стану слизової оболонки у оглянутих хворих покращились не тільки по порівнянню з тими, які були до початку II-го курсу, але й з результатами отриманими після 1-го курсу лікування.

На основі аналізу найближчих і віддалених результатів можна зробити висновок, що з

кожним послідувачим курсом комплексного лікування хворих склеромою з використанням інгаляцій радоною водою покращується функціональний стан слизової оболонки дихальних шляхів хворих на склерому.

Експериментальне обґрунтування можливості застосування мінеральної води із вмістом радону і тіотриаозоліна для імунотерапії у хворих склеромою.

Дослідження імунотерапевтичних властивостей радонової води і тіотриаозоліна in vitro

Матеріалом для досліджень служили клітини піднебінних мигдаликів 12 хворих хронічним тонзилітом і лімфоцити периферичної крові 11 хворих склеромою. Обстеження хворих склеромою і тонзилектомія у хворих хронічним тонзилітом проводилися у фазі клінічної ремісії захворювань, при цьому супутніх захворювань окремих органів і систем у донорів імунотерапевтичних клітин виявлено не було.

Функціональну активність клітин оцінювали по рівню природної клітинної цитотоксичності (ПЦК) і активності фагоцитозу на стадії захоплення частинок латексу (І.П. Кайдашев, 2005). по відносному вмісту клітин (фагоцитарний показник, ФП), що фагоцитують, і кількості частинок латексу, поглинених однією клітиною (фагоцитарний індекс, ФІ).

Експресію CD-антигенів вивчали методом розеткоутворення, використовуючи консервовані еритроцити, пов'язані з різними моноклональними антитілами (Вітебськ, Білорусь). Деструктивну активність ЕК- кліерів досліджували відносно ксеногенних мішеней (еритроцити курей) і ступінь їх руйнування визначали спектрофотометрично по виходу гемоглобіну (О.Ф. Мірошників, Т.А. Заяц,1999). Фагоцитарну активність оцінювали по відносному числу клітин, що захопили частинки латексу, і виражали у відсотках (І.П. Кайдашев,2005). Крім того, при дослідженні впливу in vitro мінеральної води із вмістом радону на клітини піднебінних мигдаликів досліджували вміст в суспензії числа лімфоїдних клітин з наявністю рецептора до Fc-фрагменту імуноглобулінів відповідно до рекомендацій В.П. Леськова і соавт.,1981). Наявність достатньої кількості таких FcR+ клітин

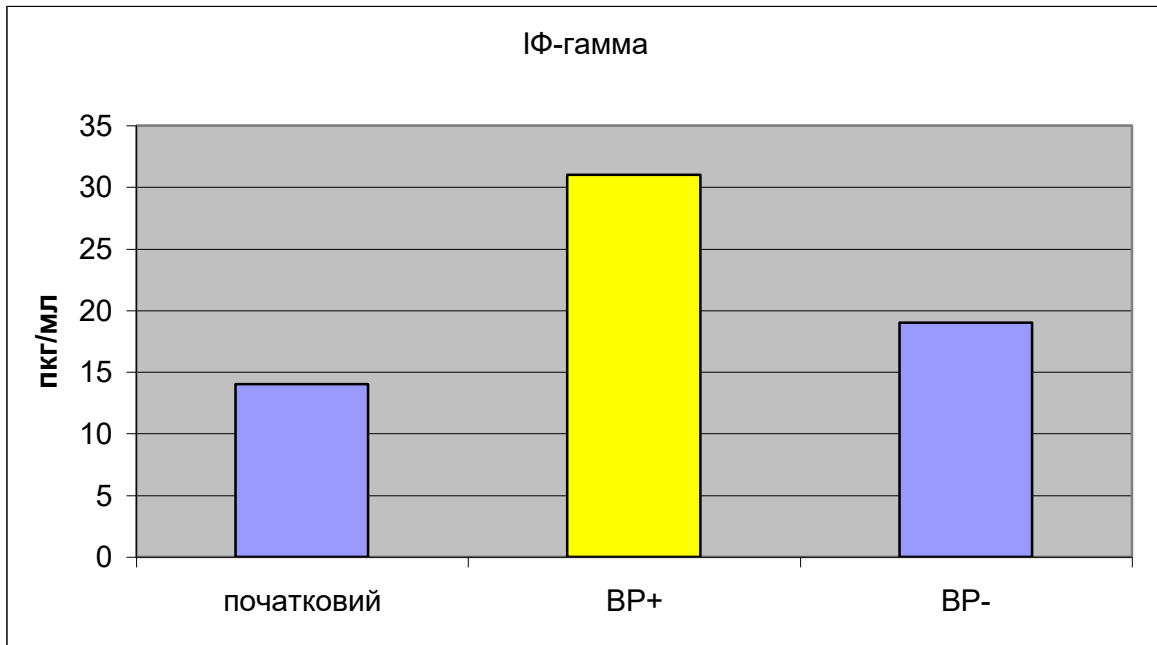
відображає вірогідний потенціал імунокомпетентних клітин. Разом з цим, при культивуванні клітин мигдаликів в надосадочній рідині після добового культивування з Vp^+ (вода радонова) і Vp^- (без води радонової) досліджували вміст гамма-інтерферона (ІФ- γ), застосовуючи метод імуноферментного аналізу і реактиви російського виробництва (ТОВ « Цитокін»).

Було встановлено, що інкубація клітин мигдаликів з Vp^+ і Vp^- із джерела №3 м. Хмельник істотним чином не впливала на кількість клітин з фенотипами CD2,CD4,CD25, проте кількість клітин з фенотипом CD 56 (природні цитотоксичні клітини) і FcR^+ імунокомпетентних клітин достовірно збільшувалося в культурах з Vp^+ . При вивченні функціональної активності ПЦК мигдаликів, оброблених Vp^+ і Vp^- було визначено, що культивування з Vp^+ достовірно підсилювало неспецифічну цитолітичну активність клітин мигдаликів *in vitro*. Присутність в культуральній рідині Vp^+ достовірно збільшувало рівень фагоцитарного показника з 56,2 % клітин в початковому стані до 78,8%, тоді як використання тільки мінеральної води (Vp^-) практично не впливало на число клітин, що фагоцитували. Фагоцитарний індекс, що відображає інтенсивність стадії захоплення істотно не змінювався.

При дослідженні впливу Vp^+ на рівень спонтанної продукції ІФ- γ в культурі клітин *in vitro* вдалося показати, що наявність Vp^+ істотно підсилювала спонтанну продукцію цього цитокіна в культурі клітин піднебінних мигдаликів (мал. 2).

При дослідженні впливу Vp^+ на аналогічні показники при культивуванні клітин периферичної крові хворих склеромою було встановлено наступне. На відміну від клітин піднебінних мигдалин лімфоцити периферичної крові хворих склеромою реагували на Vp^+ тільки збільшенням в культурі числа клітин з поверхневим антигеном CD25 (активовані клітини).

Визначення впливу Vp^+ на функціональний стан чинників природженого імунітету (активність ПЦК і фагоцити) дозволило встановити, що середні значення деструктивної активності ПЦК відносно ксеногенних еритроцитів при дії Vp^+ і Vp^- суттєвим чином не відрізнялися від початкових рівнів. Разом з цим зберігалася виявлена достовірна тенденція до збільшення (у 1,5 разу) середнього рівня фагоцитарного показника під дією Vp^+ .



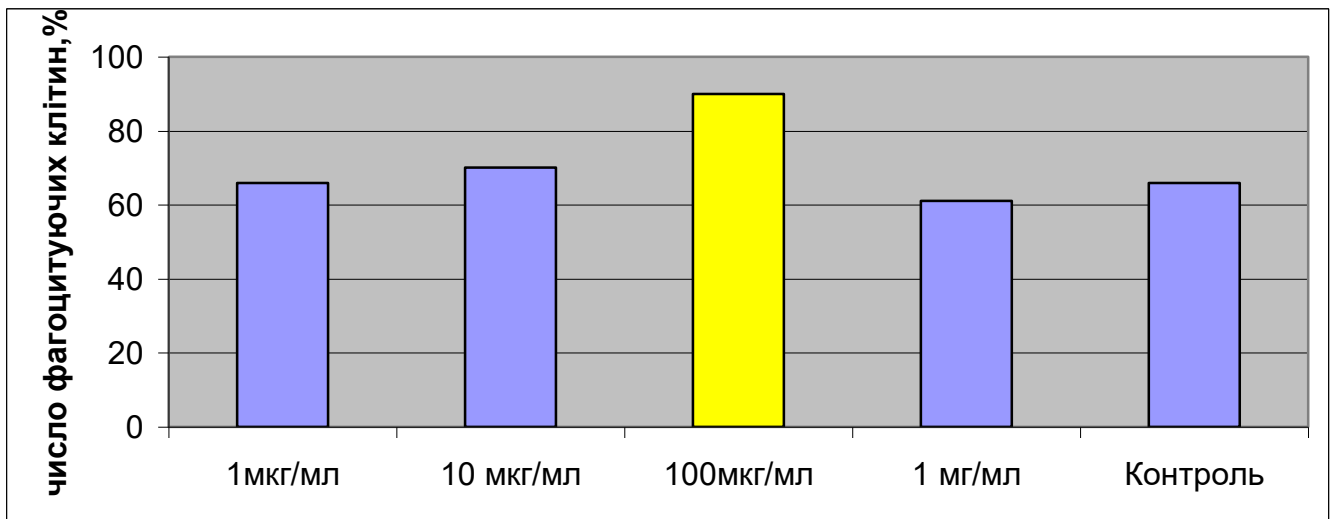
Мал. 2. Рівень гамма-інтерферона в надосадочній рідині після культивування клітин мигдаликів з Вр⁺ і ВР⁻. Достовірність по відношенню до контролю позначена світлим відтінком.

Таким чином результати проведених досліджень свідчать про те, що мінеральна вода, Rn222, що містить, в невеликих кількостях (до 10 од. Маху) може володіти стимулюючим впливом на фенотипічні і функціональні прояви як тканинних клітин піднебінних мигдаликів хворих хронічним тонзилітом, так і клітин крові хворих склеромою. Звертає на себе увагу той факт, що на клітинах мигдаликів виявляється більший спектр впливів як на фенотип, так і функціональну активність, ніж на клітинах крові хворих склеромою. Так, якщо при дії Вр⁺ спостерігалися стимулюючі впливи на клітини мигдаликів по фенотипу CD56 і активності ПЦК і рівня ФП, то при дії на клітини крові хворих склеромою – тільки на фенотип CD25 і рівень ФП. Далі, очевидно, що до активуючого впливу Вр⁺ схильні тільки складові природженого імунітету : ПЦК, фагоцити, FcR⁺ клітини. Враховуючи сьогоденні уявлення про регуляторний і антивірусний вплив на клітини системи імунітету гамма-інтерферона (А.С. Симбірцев,2002) можна вважати за позитив збільшення його продукції в культурі клітин піднебінних мигдаликів під дією Вр⁺. Відомо, що дія радіації на імунокомпетентні клітки при прямому контакті може носити характер стресової ситуації (М.Б. Самбур, 1994; А.А. Чумак,1998), тому можна вважати, що адаптаційні

зміни у фенотипі і функції клітин імунітету у хворих склеромою більш загальмовані, ніж тканинні клітини мигдаликів хворих хронічним тонзилітом і, ймовірно, потребують додаткової більш специфічної дії імунотропних речовин.

Разом з вивченням впливу Vp^+ на клітини крові хворих склеромою *in vitro* було досліджено вплив розчинів тіотриазоліна на чинники природженого імунітету – фагоцитарну і цитолітичну активність. При цьому враховували рекомендації Е.В. Потапова (2003), І.В. Калущого (2004) за клініко-імунологічною оцінкою вивчення дії тіотриазоліна.

Було встановлено, що вплив тіотриазоліна при дослідженнях *in vitro* практично не зачіпав рівня фагоцитарної активності клітин крові хворих склеромою (мал. 3). Лише у концентрації препарату 100 мкг/мл наголошувалася достовірна тенденція до збільшення захоплення інертного субстрата для фагоцитоза- частинок латексу.



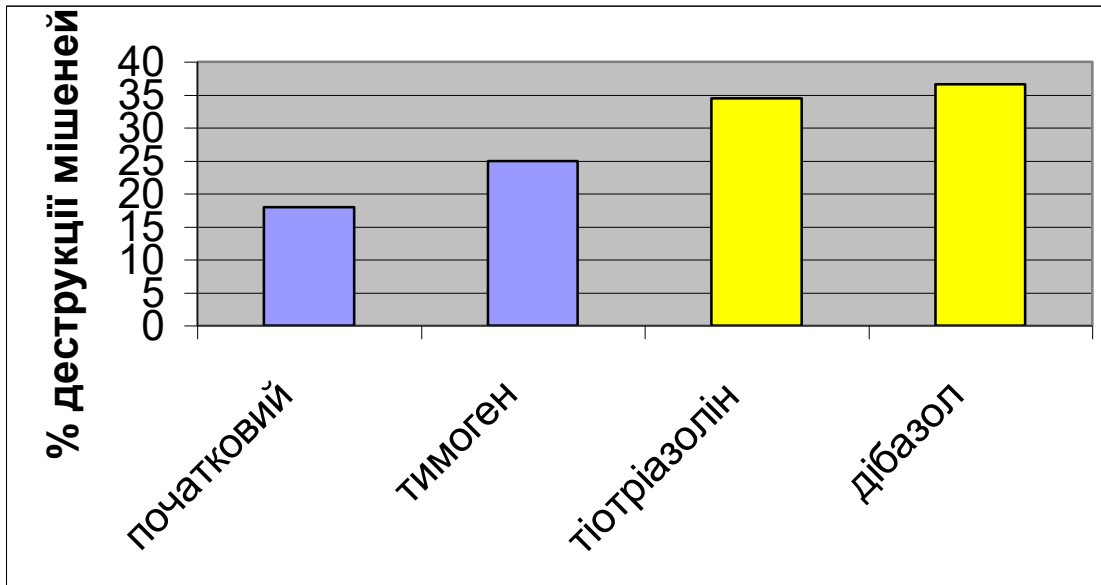
Мал. 3 Вплив різних концентрацій тіотриазоліна на фагоцитарний показник клітин крові хворих склеромою *in vitro*.

При дослідженні впливу тіотриазоліна на природну цитолітичну активність клітин крові хворих склеромою і практично здорових осіб було виявлено, що препарат як в концентрації 10 мкг/мл так і 100 мкг/мл активував деструктивну здатність лімфоцитів крові хворих склеромою в 9 з 10 зразків, тоді як у практично здорових донорів тільки в 2 з 10 зразків. Крім того середній рівень деструктивної

активності мішеней, достовірно знижений у хворих склеромою, після дії тіотриазоліном в оптимальній концентрації (10 мкг/мл) наближався до такого практично здорових людей.

Оскільки у хворих склеромою є стійке зниження активності природних цитотоксичних клітин (ПЦК) і, в меншій мірі, число Т клітин з маркером CD2, представлялося необхідним провести порівняльне дослідження активуючих властивостей тіотриазоліна з іншими імуномодуляторами. Як препарати порівняння були вибрані дібазол, який може стимулювати ПЦК і приводити до мембранних змін імунокомпетентних клітин по антигенах CD (О.Ф. Мірошників і соавт.,1999); Тімоген, відомий тимоміметик (В.М. Манько і співавт,2002). Дослідження проведені на клітинах крові 7 хворих склеромою в триплетах на кожну пробу по викладеній схемі визначення імуномодулюючих властивостей препаратів *in vitro*, всього 84 проби. Всі препарати використовували в кінцевій концентрації 10 мкг /мл. Дані по дослідженню впливу препаратів на активність ПЦК представлені на мал. 5, з якого видно, що найбільш активною стимулюючою дією на клітини крові володіли дібазол (36% деструкцій мішеней і тіотриазолін-35%), менш активним стимулятором активності ПЦК був тимоген (25% активності).

При вивченні впливу препаратів на експресію Т- лімфоцитів крові хворих склеромою CD2- антигена найбільш активним *in vitro* був тимоген (39% клітин після дії препарату проти 22% в початковому рівні), потім слідували тіотриазолін (33 %) і дібазол (26%).



Мал. 5 Вплив різних імунотропних засобів на активність ПЦК крові хворих склеромою *in vitro*. Достовірність (тут і далі) позначена світлим відтінком.

Аналізуючи приведені результати можна відзначити, що по сумі стимулюючих впливів на ПЦК і Т-клітини хворих склеромою найбільш активним був тіотриазолін.

Дослідження імуномодулюючих властивостей Vp^+ і тіотриазоліна *in vivo*

У експериментальних дослідженнях було використано 60 щурів Вістар, що містяться в умовах віварію Вінницького національного медичного Університету ім. М.І. Пирогова. Перша серія тварин була використана для дослідження специфічної клітинної і гуморальної імунної відповіді на антигени стафілокока, друга для вивчення впливу чинників експериментальної терапії на чинники природженого імунітету.

Визначення імуномодулюючих властивостей Vp^+ і тіотриазоліна при роздільному і сумісному використанні було проведене на групах імунодефіцитних тварин – щурів Вістар, оброблених циклофосфаном в дозі 40мг/кг (Р.І. Красий, 1989) маси за добу до початку використання лікувальних чинників. Як у першій, так і другий серіях експериментів було задіяно 6 груп тварин по 5 особин в кожній групі.

На 3 день від початку експериментальної терапії тварин імунізували внутрішньоочеревинним введенням стафілококового анатоксина, сорбованого на

гідроокисі алюмінію в дозі 0,1 мл з подальшим розведенням цієї кількості в 10 разів фізіологічним розчином хлористого натрію. Повторне введення антигена проводили на 10 день від початку експериментальної терапії. Тестування рівня специфічної гуморальної і клітинної імунної відповіді на стафілококовий протеїн А проводили на 3 добу після закінчення терапії.

Було встановлено, що при моделюванні імунодефіцитного стану із застосуванням циклофосфана в сироватці крові тварин достовірно знижувався титр антитіл до протеїну А стафілокока. Використання Vp^+ відновлювало антитілоутворюючий потенціал тварин практично до значень, зареєстрованих у нормальних тварин. Застосування тільки тіотриазоліна окремо або одночасно з Vp^+ супроводилося лише тенденцією до збільшення утворення антитіл, проте рівень антитіл при цьому не досягав значень у контрольній групі. В той же час використання Vp^+ і подальшого потім введення тіотриазоліна приводило до вираженої стимуляції антитілогенеза на мікробні антигени стафілокока, специфічних імуноглобулінів, що достовірно перевищують рівень, при ізольованому застосуванні цих чинників у імунодефіцитних тварин.

Подальші дослідження параметрів імунітету у даних груп піддослідних і контрольних тварин стосувалися дослідження особливостей у вмісті в крові окремих груп клітин. Не було відмічено істотних коливань по вмісту палочкоядерних, моноцитарних еозинофільних лейкоцитів крові, тоді як загальне число лейкоцитів у тварин знижувалося після застосування циклофосфана і достовірно відновлювалося після прийому Vp^+ одночасно або послідовно з тіотриазоліном. Монотерапія тіотриазоліном або Vp^+ не сприяла відновленню загального числа лейкоцитів.

Аналіз лейкограм у тварин показав, що число лімфоцитів в крові піддослідних тварин змінювалося мало, найбільш істотні зрушення виявлені з боку кількості сегментоядерних лейкоцитів: при введенні циклофосфана їх число зменшувалося майже удвічі і відновлювалося при використанні всіх варіантів експериментальної терапії.

Разом з тим, відсутність коливань в загальних кількісних параметрах лімфоцитів в крові тваринних різних експериментальних груп зовсім не означає того

факту, що відмінності субпопуляцій є по окремих субпопуляціях лімфоцитів, таких як мастафінних лімфоцитів, лімфоїдних клітин, що мають рецептор до Fc-фрагменту імуноглобулінів (FcR+), а також великих гранулярних лімфоцитів (ВГЛ), що є матеріальним субстратом природної клітинної цитотоксичності крові.

Дослідження показали, що при обробці експериментальних тварин циклофосфаном знижується як кількість мастафінних лімфоцитів (МЛР), які за даними ряду авторів (Е.В. Гюллінг і співавт.,1987; І.С. Никольський,1988; О.Ф. Мельников,1998), є незрілими лімфоїдними клітинами, так і ВГЛ і FcR+. Застосування всіх методів експериментальної терапії сприяло відновленню всіх трьох представлених функціональних субпопуляцій клітин лімфоїдного ряду.

ВИСНОВКИ

В проведеному дослідженні предствелені функціональні та клініко-імунологічні підтвердження змін системного, і особливо місцевого імунітету у хворих з різними формами на склерому; експеремнтально та клініко-імунологічно обгрунтовано включення до комплексної терапії недуги радонової води та вітчизняного препарату з імуномодулюючою дією – тіотріазоліну, доведено ефективність цих засобів як при загальному так і при місцевому використанні.

1. У хворих на склерому виявлений вторинний імунодефіцит, що проявляється зниженням рівня гуморального місцевого та показників системного імунітету.

2. Доведена позитивна динаміка показників місцевого та системного імунітету при застосуванні радонової води місцево та тіотріазоліну, як у комплексному лікуванні, так і окремо, особливо у хворих з атрофічною та інфільтративною формами.

3. Проведені дослідження *in vitro* по встановлені імунного статусу у хворих на склерому свідчать про виражену функціональну недостатність реакцій імунітету у хворих на склерому і необхідність проведення імунореабілітаційних міроприємств.

4. Запропонована модель імунодефіцитного стану у тварин з використанням невеликих доз циклофосфана в цілому може відображати основні прояви імунної недостатності, виявлених у хворих на склерому.

5. Сумісне застосування радонової води і тіотриазоліна, особливо при послідовному використанні останнього, сприяє потенційованому ефекту впливу радонової води при відновленні імунітету у тварин з імунодефіцитом.

6. Клінічні та об'єктивні методи дослідження показали, що застосування радонової води та тіотриазоліну має позитивний вплив на імунологічний та функціональний стан слизової оболонки ВДШ у хворих на склерому, та може оцінюватись як фактор патогенетичної терапії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абызов Р. А., Белоусова А. А. Склерома в центральной Африке. //Журн. ушных, носовых и горловых болезней. 1986. №1.-с.84.
2. Адельська-Салганик М. Етіологія і епідеміологія склероми. Вкн.: Склерома верхніх дихальних шляхів. К., 1938, т.V, вип. I, 5-33.
3. Аленгоз Н. Г. Содержание тиамин в крови больных и изменение его под действием стрептомицина ЖУНГБ, 1962, 6, 53-55.
4. Бакулев А. Н. Большая медицинская энциклопедия, 1962, т. 27.
5. Барияк І. Р. Стан кон'ютивального мішка, переднього відрізка ока та слъозних шляхів у хворих склеромою з ураженням носа. Кн.: Актуальні питання склероми. К., 1967, 94-96.
6. Барияк И. Р. Орган зрения у больных склеромой: Автореф. дис. канд.мед. наук.- Донецк, 1975. - 23с.
7. Барияк Р.А. Географія східноєвропейського вогнища склероми.// Актуальні питання склероми. - Київ, 1967. - с 6-8.
8. Барияк Р.А. Клиническая цитология склеромной гранулемы. Автореферат диссудокт.мед.наук. -Львов, 1959.
9. Вирабов А.В., Тэриан С.А. К вопросу о тоне вегетативной нервной системы и о содержании кальция и калия в сыворотке крови у больных с атрофическим насморком, озенкой и склеромой. ЖУНГБ, 1934, 2, 3, 267-271.
- 10.Воячек В.И. О новых случаях склеромы дыхательных путей. Вестн. ушн., нос, горл, бол., 1912, 5, 347-361.
- 11.Гублер В. В, Вычислительные методы распознавания патологических процессов. -Л.: Медицина, 1970.
- 12.Гублер В. В. Вычислительные методы анализа и распознавания паталогических процессов. -Л.: Медицина, 1978.
- 13.Гусаров И. И. Радонотерапия. Москва, «Медицина » 1974. - с. 158.
14. Дерепя В. К. Комплексное лечение больных склеромой с местным применением левамизола. Автореферат диссертации на соискание учёной степени к.м.н. Киев, 1987, ст.28.
- 15.Дерепя В. К., Бондаренко В. С, Кищук В. В. Некоторые цитохимические

- показатели в лейкоцитах периферической крови у больных склеромой. ЖУНГ№3, 1984, ст. 25-26.
16. Дерепя К.П. Газы крови у трахеотомированных и нетрахеотомированных больных склеромой. Материалы респ. конф. по проблеме склеромной инфекции, тез. докл., Минск, 1956, 77.
 17. Дерепя К.П. Снабжение организма кислородом у больных склеромой по данным газового состава крови. Канд. дисс, 1957.
 18. Дерепя К.П. О содержании витамина А и каротина в сыворотке крови больных склеромой. Вестник оторинолар., 1963, 3, 107-109.
 19. Дерепя К.П. Электрофоретическое исследование белков и липопротеидов сыворотки крови у больных склеромой. ЖУНГБ, 1965, 4, 60-63.
 20. Дерепя К.П. Некоторые вопросы патогенеза и патогенетической терапии склеромы. Докт. дисс, Киев, 1966.
 21. Дерепя К.П. Обеспеченность организма больных склеромой витамином С. ЖУНГБ, 1970,3,47-52.
 22. Дерепя К.П., Бондаренко В. С. Применение радоново углекислых вод курорта Хмельник в комплексном лечении больных склеромойУ/Респ. науч. конф.: Тезисы докладов. - Здоровье, 1980. - с. 199-201.
 23. Евдощенко Е.А. Содержание витамина Е в сыворотке крови у больных склеромой. ЖУНГБ, 1959, 6, 65-68.
 24. Евдощенко Е.А. Содержание витамина С в моче у больных склеромой. ЖУНГБ, 1961,3,45-49.
 25. Евстафьев Н.Т. Содержание кальция, калия в крови больных склеромой. Вестник оториноларин, 1932, 4,464-471.
 26. Евстафьев Н.Т. Содержание холестерина в крови больных склеромой. ЖУНГБ, 1934,3,274-281.
 27. Заболотный Д.И., Мельников О.Ф., Кищук В.В. Иммунодиагностика функционального состояния небных миндалин // Материалы юбилейной конференции поев. 100-летию со дня рождения членкора АН УССР проф. А.И. Коломийченко. - К.: Здоровье, 1999.-С. 145.
 28. Зарецкая Ю. М. Клиническая имунногенетика. - М.: Медицина, 1983. -с.66.

29. Кошля В., Дмитрієва С., Зеленська А. та ін. // Ліки України. — 2003. — № 7–8. — С. 30-32.
30. Крайзман А. Н, К вопросу о частоте семейных случаев заболевания склеромой // ЖУНГБ, 1978, №1, с. 93.
31. Красильников А.П. Эпидемиология склеромы: дис. док. мед. наук.' Минск 1966.
32. Красильников А.П. Основні положення антропонозної гіпотези склероми. Вкн.: Актуальні питання склероми. К., 1967, 29-32,
33. Красильников А.П., Израитель Н. А. Склерома. Минск, 1971.
34. Красильников А.П., Израитель Н. А., Борткевич Л. Г. - В. кн.: Съезд гигиенистов эпидемиологов, микробиологов и инфекционистов Белоруссии. 5-й. Тезисы докладов. Минск, 1971, с. 270-273.
35. Несвижская С.С. Состояние внутренних органов у больных склеромой. Автореф. канд. дисс, Минск, 1955.
36. Несвижская-Аталевська С.С. Состояние внутренних органов у больных склеромой. Вкн.: Склерома. Киев, 1959, 237-274.
37. Овчаренко Т. М., Свирновская С, М., Коновалов А. В. Поражение слухового анализатора у больных склеромой при лечении стрептомицином // Актуальные вопросы оториноларингологии. - Алма-та, 1979, с. 367-369.
38. Оливьера П., Дж. Сантос М.С., Уэллас К.В. // Биохимия. — 2006. — Т. 71, № 2. — С. 247-253.
39. Охотин В.В. // Успехи физиол. науки. — 2002. — Т. 33, № 2. — С. 41-57.
40. Павловский А.Д. Мед. обзор, 1891, XXXI, 1, 749.
41. Петров Р. В. Иммунология и иммуногенетика. М., 1976.
42. Титов И.Т. О гистологии склеромы. Сб. I Всесоюзная конференция по склероме. Минск, 1940.
43. Титов Л. П., Овчаренко Т. М., Израитель Н. А., Каскевич Л. И. Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови больных склеромой. ЖУНГ №4, 1982, с. 56-59.
44. Ткачук В.А. Рецепторы и внутриклеточный кальций. — М.: Наука, 1994. — 295 с.
45. Тогер Н.В. Некоторые показатели обмена меди, цинка и сопряженных с ними

металлоидов у больных склеромой. ЖУНГБ, 1972, 4,96-101.

46. Тогер Н.В. Некоторые клинико-биохимические параллели при склероме. Канд. дисс. Ив-Франковськ, 1973.
47. Урсол Н.Б., Станіславчук М.А., Король А.П. // Вісн. морфол. — 2005. — Т. 11, № 1. — С. 76-81.
48. Чекман И.С., Горчакова Н.А., Французова С.Б. и др. Кардиопротекторы. — К., 2005. — 204 с.
49. Чернушенко Е. Ф., Когосова Л. С. Иммунологические исследования в клинике. Киев, 1978.
50. Файнштейн Б. А. К вопросу о классификации склеромы // ЖУНГБ. - 1980, №3, с. 53-54.
51. Beagley K. W., Eldridge J. H., Kiyono H. ET Al. Recombinant murine IL - 5 induces high rate IgA synthesis in cycling IgA - positive peyer ' s patch B cells//J. Immunol. - 1988 . - Vol. 141. - P. 2035 - 2042.
52. Beagley K. W. , Eldridge J. H., Lee F. ET Al. Interleukins and IgA synthesis. Human and murine interleukin 6 induce high rate IgA secretion in IgA - committed B cells//J. Exp. Med. -1989. - Vol. 169. - P. 2133 - 2148.
53. Bienenstock J., Befus D., McDermott M. ET Al. Regulation of lymphoblast traffic and localization in mucosal tissues with emphasis on IgA//Fed. Proc. - 1983. - Vol. 42. - P. 3213 - 3217.
54. Hiroi T., Yanagita M., Iijima H. ET Al. Deficiency of IL - 5 receptor? -chain selectively influences the development of the common mucosal immune system independent IgA - producing B - 1 cell in mucosa - associated tissues/Я. Immunol. - 1999. - Vol. 162. -P. 821 - 828.
55. Hotomi M., Saito T., Yamanaka N. Specific mucosal immunity and enhanced nasopharyngeal clearance of nontypeable Haemophilus influenzae after intranasal immunization with outer membrane protein P6 and cholera toxin// Vaccine. -1998. - Vol. 16. - P. 1950 -1956.
56. Ichimiya I., Kawauti H., Mogi G. Analysis of immunocompetent cells in the middle ear mucosa/ /Arch. Otolaryngol. Head. Neck. Surg. - 1990. - Vol. 116.-P. 324-330.
57. Kelsoe G. B cell diversification and differentiation in the periphery/ /J. Exp. Med. -

1994. - Vol. 180. - P. 5 - 11.23. Kiyono H., Bienenstock J. Features of inductive and effector sites to consider in mucosal immunization and vaccine development//Reg. Immunol. -1992. - Vol. 4. -P. 54 - 62.
58. Kiss J.P., Vizir E.S. // Trends. Neurosci. — 2004. — Vol. 24, № 1. — P. 211-220.
59. Russell M. W., Moldoveanu Z., White P. L. ET Al. Salivary, nasal, genital, and systemic antibody responses in monkeys immunized intranasally with a bacterial protein antigen and the cholera toxin B subunit//Infect. Immun. - 1996. - Vol. 64. - P. 1272 - 1283.
60. Ryter S.W., Tyrell R.M. // Free Radic . Biol. Med. — 2004. — Vol. 34, № 5. — P. 131-142.
61. Scicchitano R., Stanisz A., Ernst P. B ., Bienenstock J. A common mucosal immune system revisitedV/Migration and Homing of Lymphoid Cells/ Ed. A. J. Husband. - CRC Press, Boca Raton. -1988 - Vol. 11. - P. 1 -15.