ОСОБЕННОСТИ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ БАКТЕРИАЛЬНЫМ НАРУЖНЫМ ОТИТОМ С ПРИМЕНЕНИЕМ ВНУТРИВЕННОГО ОСВЕЧИВАНИЯ КРОВИ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ С ДЛИНОЙ ВОЛНЫ 445 НМ

Безбрязов А.В.
Врач оториноларинголог
Городская клиническая больница №12, Казань, Россия
Аннотация

PECULIARITIES OF TREATMENT OF PATIENTS WITH ACUTE BACTERIAL EXTERNAL OTITES WITH USE OF INTRAVENOUS LUMINATION OF BLOOD WITH LOW-INTENSIVE LASER RADIATION WITH WAVE LENGTH 445 NM

Bezbryazov A.V.
Physician otorinolaryngologist
City clinical hospital no. 12, kazan, russia

Аннотация

Актуальность: Всё большая распространённость аллергических реакций на лекарственные средства и развитие антибиотикорезистентности ограничивает возможности своевременного и качественного оказания медицинской помощи больным острым бактериальным наружным отитом (ОБНО).

Цель исследования: изучение эффективности лечения больных острым наружным отитом внутривенным лазерным освечиванием крови с длиной волны 445 нм (ВЛОК-445).

Материалы и методы: 30 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет с ОБНО были разделены на две группы. В основной группе на фоне стандартного лечения проводилось ВЛОК-445 (длина волны лазерного излучения 445 нм, мощность 1-2 мВт на выходе одноразового стерильного световода КИВЛ-01). В контрольной группе проводилось только стандартное лечение.

Результаты: Комплексная терапия больных ОБНО с использованием ВЛОК-445 приводит к раннему выздоровлению пациентов по сравнению со стандартной терапией, приводит к значительному уменьшению выраженности воспалительной реакции, отсутствию некротически-деструктивных процессов, полной регенерации желез и эпителиальной выстилки наружного слухового прохода.

Заключение: Высокая терапевтическая эффективность и простота метода, небольшое количество противопоказаний позволяют рекомендовать ВЛОК-445 для лечения больных острым бактериальным наружным отитом.

Abstract

Relevance: The increasing prevalence of allergic reactions to drugs and the development of antibiotic resistance limit the abilities to provide timely and qualitative medical care to patients with acute bacterial external otitis (ABEO).

Aim: The aim of the study was to increase the effectiveness of treatment of patients with acute external otitis using a new technique – ILBI-445 (intravenous laser blood illumination with a wavelength of 445 nm).

Materials and methods: 30 patients aged 18 to 60 years with acute bacterial external otitis were divided into two groups. In the main group, ILBI-445 (laser wavelength of 445 nm, power of 1-2 mW at the output of a disposable sterile KIVL-01 light guide) was carried out against the background of standard treatment. In the control group, only standard treatment was performed.

Results: Complex therapy of patients with OBNO using VLOK-445 leads to early recovery of patients compared with standard therapy, leads to a significant decrease in the severity of the inflammatory reaction, the absence of necrotic-destructive processes, complete regeneration of glands and epithelial lining of the external auditory canal.

Conclusion: The high therapeutic efficiency and simplicity of the method, a small number of contraindications allow us to recommend ILBI-445 for the treatment of patients with acute bacterial external otitis media.

Ключевые слова: лазерная терапия, внутривенное лазерное освечивание крови, бактериальные наружные отиты

Keywords: low level laser therapy, intravenous laser blood illumination, bacterial external otitis

Введение

Несмотря на успехи современной медицины, лечение больных наружными отитами (ОБНО) продолжает оставаться актуальной проблемой. В настоящее время чаще всего используются комплексные лечебные схемы, включающие в себя местную терапию на основе системных антибактериальных препаратов и физиотерапии [1; 2]. Всё большая распространённость аллергических реакций на лекарственные средства и развитие антибиотикорезистентности, наличие противопоказаний для многих физиотерапевтических процедур ограничивает возможности своевременного и качественного оказания медицинской помощи.

Это определяет необходимость поиска новых методов, которые позволили бы не только оториноларингологам, но и врачам общей практики, повысить эффективность лечения данной категории больных. Лазерная терапия, использующая различные варианты воздействия на пациента низкоинтенсивным лазерным излучением (НИЛИ), исключительно эффективна при

практически полном отсутствии противопоказаний [3], к тому же проста в применении, не требует каких-то особых специальных навыков и условий её применения, если руководствоваться правилами оптимизации лазерного воздействия [4].

Одним из перспективных направлений лазерной терапии является внутривенное лазерное освечивание крови (ВЛОК), существенно влияющее на метаболические процессы, усиление микроциркуляции и нормализацию различных показателей иммунной системы [5; 6; 7]. Известно, что для эффективной реализации этой методики необходимо выбирать наиболее оптимальные параметры длины волны НИЛИ, исходя из особенностей патогенеза и характера течения заболевания. Анализ литературы и предварительных данных собственного клинического опыта, позволил предположить перспективность использования НИЛИ синего спектра (длина волны 445 нм), была разработана соответствующая методика – ВЛОК-445 [8].

Цель исследования: повышение эффективности лечения больных острым наружным отитом с применением новой методики – ВЛОК-445.

Задачи исследования: Изучить эффективность комбинированного лечения больных наружных бактериальными отитами с использованием методики внутривенного лазерного освечивания крови в сравнении с традиционным методом.

Материал и методы исследования

Исследования проводилось с апреля 2017 года по июнь 2017 года. Набор пациентов был с апрель 2017 года по май 2017 года. У всех установлен диагноз острый бактериальный наружный отит. Пациенты обращались в поликлинику, как правило, на 2-3 день от начала заболевания с жалобами на боль и зуд в ухе, снижение слуха, общее самочувствие, температура тела.

Были изучены биоптаты наружного слухового прохода, полученные от 30 больных острым наружным отитом. Мужчин было15, женщин 15, средний возраст больных составил 36 лет.

Фиксация материала осуществлялась в 10% нейтральном формалине по Лилли или жидкости Боуэна.

После соответствующей проводки (Угрюмов М.В., 1996; Romies D., 1954) по спиртам возрастающей концентрации образцы ткани запивались в парафин. На микротоме Leica SM 2000R изготавливались гистологические срезы толщиной 4-5 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином.

Для иммуногистохимического исследования (Петров С.В., Райхлин Н.Т., 2012; Taylor C.R., Cote R.J., 1994) парафиновые срезы расправлялись в водяной бане Гистобат LEICA HI 1210, помещались на предметные стекла, обработанные поли-L-лизином и высушивались при температуре 35ºС в течение одного часа. После депарафинирования в о-ксилоле (2 мин.) следовала промывка и обезвоживание в двух порциях 96% спирта по 5 мин. в каж-

дой и 70% спирте (10 мин.). Затем стекла со срезами промывались в дистиллированной воде, после чего следовала демаскировка антигенов в цитратном буфере (DAKO: Target Retrieval Solution, pH 6,0, код S 169984-2) в водяной бане при температуре 95º С (40 мин.). После остывания препаратов в этом же растворе до комнатной температуры и обработки в Трис-буфере (TBS, pH 7,4) проводилось подавление эндогенной пероксидазы при помощи 3% раствора перекиси водорода (20 мин.). Затем следовала повторная промывка в Трис-буфере, после чего срезы оставались в холодильнике при температуре 4º С в течение 12 часов.

Исследование проводилось с помощью набора антител (МКАТ), характеристика которых представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Характеристика первых антител.

Антитело	Клон	Специфичность	Рабочее разведение	Фирма-производитель
CD 45 (общелейко-цитарный антиген)	2B11-PD7/26	все лейкоциты	1:200	Dako
миелопероксидаза (MPO)	поликлональные	нейтрофильные лейкоциты	1:800	Dako
CD 3	SP7	Т-клетки	1:150	Lab Vision
CD 20	L26	В-клетки	1:250	Lab Vision
CD 68	PGM1	макрофаги	1:200	BioGenex
CD 31	9611	эндотелий сосудов	1:20	BioGenex
коллаген IV	PHM-12 + CIV22	базальные мембраны	1:150	Lab Vision
пан-цитокератины	AE1/AE3	эпителий	1:300	Lab Vision

Первые антитела разводились специальным буфером с компонентом, препятствующим их неспецифическому связыванию (DAKO: Antibody Diluent with Background Reducing Component, код S3002). Экспозиция первых МКАТ составляла 1 час при постоянной (30º С) температуре, поддерживаемой при помощи нагревательной платы (гистоплата LEICA HI 1220). Затем стекла со срезами промывались в течение 10 мин. в Трис-буфере.

Связывание первых антител с клеточными и структурными элементами определялось при помощи стандартного биотин-стрептавидин-пероксидазного метода (DAKO: LSAB® + System-HRP, код K0690) с диаминобензидином в качестве хромогена. После промывки в дистиллированной воде препараты дополнительно окрашивались гаматоксилином Майера в течение

1-2 мин. Затем следовала повторная промывка в воде (15 мин.), дегидратация в 96% спирте (10мин.) и осветление в карбол-ксилоле (5 мин.). Срезы заключались в канадский бальзам или в специальные среды фирмы DAKO (Ultramount, Faramount, код S302580-2).

Для подсчета клеточных элементов использовалась морфометрическая окулярная сетка Г.Г. Автандилова (1990). Количественная оценка проводилась в 20 – 40 полях зрения каждого гистологического препарата, при этом учитывалось 500 – 1000 клеток. Полученные данные были обработаны статистически с вычислением критерия Стъюдента и величины Р.

Исследование проводилось в трех группах наблюдений:

1) нелеченный острый наружный отит на момент поступления (1 день лечения);
2) через 5 дней после традиционного лечения (5 день лечения);
3) через 5дней после лечения с использованием ВЛОК (5 день лечения).

После сбора анамнестических данных и проведения стандартного ЛОР-осмотра, пациенты направлялись в лабораторию микробиологии ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора. Забор биоматериала из НСП проводился до начала лечения, материал засевается на питательные среды: 5% кровяной и желточно-солевой агар, Сабуро, Эндо, тиогликолевая среда. Индентификация микроорганизмов проводилась по культуральным средам, тинкториальным и биохимическим признакам.

Все пациенты были разделены на две группы.

1. Основная группа (15 пациентов: 8 женщин и 7 мужчин), которым проводили ВЛОК-445 на фоне стандартного лечения (амоксиклав в дозе по 1 таблетке 1000 мг 2 раза в день во время еды в течение 7 дней, ушные капли Данцил по 3 капли 2 раза в день 7 дней).
2. Контрольная группа (15 пациентов: 7 женщин и 8 мужчин), которым проводили только стандартное лечение.

Методика ВЛОК: длина волны лазерного излучения 445 нм, мощность 1-2 мВт на выходе одноразового стерильного световода КИВЛ -01 по ТУ 9444-005-72085060-2008 (РУ № ФСР 2009/04331 от 16.02.2009), экспозиция варьировалась от 5 до 10 мин (табл. 1). Использовали аппарат лазерный терапевтический «Матрикс-ВЛОК» (РУ № ФСР 2010/09813 от 31.12.2010) с лазерной излучающей головкой КЛ-ВЛОК-445-2 от аппарата лазерного физиотерапевтического «Лазмик» (РУ № РЗН 2015/2687 от 25.05.2015). Аппараты и световоды производства Научно-исследовательского центра «Матрикс» (Москва, Россия). Лечение начинали проводить со 2-го дня после обращения пациента в поликлинику.

Таблица 1

Схема проведения ВЛОК у пациентов с ОБНО

Параметры воздействия	Дни процедур				
	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день	5-й день
Экспозиция, мин	5	7	10	10	10

Исследование одобрено Локальным Этическим комитетом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол заседания №3 от 21.03.17.

Результаты и их обсуждение

1 группа.

Во всех наблюдениях имело место воспаление, которое захватывало как эпителиальную выстилку, так и подлежащие ткани. Прежде всего, обращала на себя внимание реакция кровеносного микроциркуляторного русла. Сосуды были резко полнокровны, просвет их расширен, часто имел место выход форменных элементов крови за пределы сосудистого русла. Имелся выраженный периваскулярный и интерстициальный отек. В отдельных случаях, отек был настолько сильно выражен, что приводило к деформации желез наружного слухового прохода.

Иммуногистохимический анализ показывал при этом набухание и десквамацию эндотелия в просвет сосудов, что определялось МКАТ против CD 31-антигена.

Обнаруживались множественные воспалительные клеточные инфильтраты, которые располагались как в виде очагов, так и диффузно. Иммуногистохимически инфильтраты состояли из (MPO)(+) нейтрофилов (преобладающая популяция) (таблица 2); CD 68 (+) гистиоцитов-макрофагов и отдельных CD 3(+) и CD 20(+) Т- и В-лимфоцитов. В целом число CD 45(+) лейкоцитов достигало 39,7±2,58 (рис. 8).

Иногда клетки воспалительного инфильтрата проникали в эпителиальный слой (рис. 9).

Таблица 2.

Содержание клеточных элементов в слизистой оболочке наружного слухового прохода при остром отите (%; M±m).

клеточные элементы	1 группа (n=10)	2 группа (n=10)	3 группа (n=10)
CD 45(+) все лейкоциты	39,7±2,58	21,7±2,44	11,3±2,03
(MPO)(+) нейтрофильные лейкоциты	18,8±1,33	9,6±1,83	4,1±0,66
CD 3(+) Т-клетки	7,7±1,10	4,9±0,70	2,4±0,19
CD 20(+) В-клетки	15,6±1,95	9,7±1,00	4,25±0,97
CD 68 (+) макрофаги	10,8±1,76	6,9±0,89	3,4±0,57

Примечание: разница между группами наблюдений достоверна ($P<0,05$).

В некоторых случаях воспалительная реакция сопровождалась десквамацией эпителия.

Иммуногистохимический анализ самой эпителиальной выстилки показывал неравномерную окраску МКАТ против пан-цитокератинов с расщеплением и фрагментацией базальной мембраны, что выявлялось МКАТ против коллагена IV.

Имели место некротические изменения, которые захватывали отдельные железы (чаще сальные), но иногда носили и более распространенный характер с обширной деструкцией ткани.

2 группа

Интенсивность воспалительной реакции, по сравнению с первой группой, была значительно снижена. В то же время, в отдельных случаях, сохранялось полнокровие сосудов, хотя и менее выраженное, а также умеренный периваскулярный и перицеллюлярный отек.

Воспалительная клеточная инфильтрация была представлена скоплениями небольшого количества клеток (рис. 18), среди которых присутствовали нейтрофилы, но значительно меньше, чем в первой группе, и преобладали лимфоциты и макрофаги. В целом лейкоцитарная инфильтрация CD 45(+) элементами снижалась до 21,7$\pm$2,44% ($P<0,05$).

Дефектов эпителиальной выстилки не наблюдалось, иногда имела место инфильтрация субэптелиальной области отдельными клетками лимфоидного ряда. Дистрофически-некротические изменения также отсутствовали.

3 группа

В целом, гистологическая картина наружного слухового прохода соответствовала норме. Отсутствовали, или были выражены незначительно отек и сосудистое полнокровие. Иммуногистохимический анализ при этом показывал нормальную гистологическую структуру, как эндотелия сосудов, так и их базальных мембран, что соответственно выявлялось МКАТ против CD 31-антигена и коллагена IV.

Воспалительная клеточная инфильтрация, как правило, отсутствовала, или проявлялась в виде скопления отдельных лимфоцитов и макрофагов в субэпителиальной области.

Эпителиальная выстилка наружного слухового прохода была представлена неповрежденным многослойным плоским неороговевающим эпителием, с четко различимыми слоями и отсутствием клеточной инфильтрации.

Иммуногистохимически определялась равномерная окраска МКАТ против пан-цитокератинов в эпителии, а также контурирование его нормальной базальной мембраны в виде непрерывной тонкой полосы, что выявлялось МКАТ к коллагену IV.

Обсуждение Одним из перспективных направлений лазерной терапии является внутривенное лазерное освечивание крови (ВЛОК), существенно влияющее на метаболические процессы, усиление микроциркуляции и нор-

мализацию различных показателей иммунной системы [5; 6]. Исходя из анализа литературы и предварительных данных собственного клинического опыта, было сделано предположение о перспективности использования НИЛИ синего спектра (длина волны 445 нм), разработана соответствующая методика – ВЛОК-445 [8]. Лазерная терапия ВЛОК пациентов с ОБНО по предложенной схеме в комплексе со стандартной терапией позволила интенсифицировать лечение и достичь лучших результатов.

Как показали наши исследования, применение ВЛОК при лечении острого наружного отита, по сравнению с традиционной терапией, приводит к значительному уменьшению выраженности воспалительной реакции, отсутствию некротически-деструктивных процессов, полной регенерации желез и эпителиальной выстилки наружного слухового прохода.

Выводы

Комплексная терапия больных ОБНО с использованием лазерной терапии по предложенной методике приводит к более раннему выздоровлению пациентов по сравнению со стандартной терапией.

Таким образом, высокая терапевтическая эффективность и простота метода, небольшое количество противопоказаний позволяют рекомендовать ВЛОК-445 для лечения больных острым бактериальным наружным отитом.

Информация о конфликте интересов

Конфликт интересов отсутствует.

Информация о вкладе каждого автора

Авторы в равной степени участвовали в проведении исследования и написании текста статьи.

Литература

1. Кустов М.О. Воспалительные заболевания наружного слухового прохода // Российская оториноларингология. 2012. №1. С. 111−118.
2. Наседкин А.Н., Москвин С.В. Лазерная терапия в оториноларингологии. М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2011.
3. Лазерная терапия в лечебно-реабилитационных и профилактических программах: клинические рекомендации / Герасименко М.Ю., Гейниц А.В., Москвин С.В. и др. М., 2015.
4. Москвин С.В., Буйлин В.А. Возможные пути повышения эффективности лазерной терапии // Лазерная медицина. 1999. Т. 3, вып. 2. С. 32-44.
5. Гейниц А.В., Москвин С.В., Ачилов А.А. Внутривенное лазерное облучение крови. М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2012.
6. Капустина Г.М., Москвин С.В., Титов М.Н. Внутривенное лазерное облучение крови (ВЛОК) // Medical Marketing & Media. 1996. № 24. С.20-21.
7. Гейниц А.В., Москвин С.В. Новые технологии внутривенного лазерного облучения крови: «ВЛОК+УФОК» и «ВЛОК-405». Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2009.
8. Москвин С.В. Эффективность лазерной терапии. Серия «Эффективная лазерная терапия». Т. 2. М.–Тверь: Издательство «Триада», 2014.