

Логунова Е.В.

Комбинационная антимикробная фотодинамическая терапия хронического тонзиллита

Logunova E.V.

Combinational antimicrobial photodynamic therapy of chronic tonsillitis

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», г. Москва

Представлен опыт лечения 43 пациентов, страдающих различными формами хронического тонзиллита (ХТ), с применением комбинационной антимикробной фотодинамической терапии (АФДТ). Предварительно, перед клинической фазой, проведены микробиологические исследования, которые показали, что микробиологический материал, полученный со слизистых оболочек небных миндалин у пациентов, страдавших различными формами ХТ, обладал высокой степенью пленкообразования. С учетом полученных микробиологических данных проведенной экспериментальной работы по изучению действия ферментов (трипсин, лидаза, рибонуклеаза) на зрелые бактериальные биопленки, сформированные монокультурами и их ассоциациями, установлено, что более эффективным ферментом оказалась лидаза, что и послужило обоснованием в выборе данного препарата для его применения в клинических условиях. Все пациенты разделены на три группы: пациенты первой группы (13 человек) получали традиционную консервативную терапию (промывание лакун небных миндалин, антибактериальную терапию, физиолечение и др.); пациентам второй группы (16 человек) выполнена АФДТ с предварительным воздействием на небные миндалины лидазой; пациентам третьей группы (14 человек) также выполнена АФДТ с лидазой, но с последующим применением пробиотика. Использование ферментов и пробиотиков в комплексе с АФДТ повышает эффективность лечения и пролонгирует ремиссию, не вызывая побочных нежелательных и аллергических реакций. *Ключевые слова:* резистентность, биопленка, антимикробная фотодинамическая терапия, ферменты, хронический тонзиллит, пробиотики.

43 patients suffering of various forms of chronic tonsillitis (CT) were treated with a combined antimicrobial photodynamic therapy (CA PDT). Microbiological studies performed before on the culture taken from the tonsil mucous of the studied patients revealed a high level of film formation activity. During the experimental work the researchers studied effects of enzymes (trypsin, lidasa, ribonuclease) at matured bacterial biofilms which consisted of monocultures and their associations. Results of the experimental work and the obtained microbiological findings have shown that lidasa turned to be the most effective enzyme. So, this enzyme was chosen for application in clinical practice. All patients were divided into three groups: patients from Group 1 (n = 13) received a conventional conservative therapy (lavage of tonsil lacunas, antibiotic therapy, physiotherapy, etc.); patients from Group 2 (n = 16) had CA PDT with preliminary treatment of tonsils with lidasa; patients from Group 3 (n = 14) also had CA PDT with preliminary treatment of tonsils with lidasa plus subsequent probiotic therapy. This study has shown that the combination of enzymes, probiotics and CA PDT increases the effectiveness of treatment and prolongs remission without any adverse and unwanted allergic reactions. *Key words:* resistance, biofilm, antimicrobial photodynamic therapy, enzymes, chronic tonsillitis, probiotics.

Введение

Хронический тонзиллит – многофакторный иммунопатологический процесс, сопровождающийся угнетением неспецифической естественной резистентности организма, нарушением гуморального и клеточного звеньев общего и местного иммунитета [2, 5, 10]. Существует ряд методов консервативного лечения хронического тонзиллита (ХТ), основой которых является saniрующее действие на небные миндалины [8]. Снижению эффективности лечения ХТ способствует бесконтрольное применение антибиотиков, приводящее к появлению резистентности у микроорганизмов. В настоящее время установлено, что бактериальным популяциям свойственно образование биопленок, обладающих уникальными биологическими свойствами, одним из которых является полная резистентность к факторам, которые могли бы легко уничтожить этих же самых микробов в случае их роста в незащищенном, планктонном состоянии [11, 12]. В связи с этим можно предположить, что формирование бактериальных биопленок в криптах миндалин может быть одной из основных причин хронизации и рецидивирующего течения ХТ [4]. Одним из альтернативных методов лечения ХТ в наши дни является антимикробная фотодинамическая терапия (АФДТ), а превентивное использование ферментов, разрушающих межклеточный матрикс биопленки, способствует переходу микроорга-

низмов в состояние планктона, что, несомненно, повышает эффективность АФДТ.

Рядом исследователей показана эффективность иммунобиологических препаратов в местной терапии заболеваний ротоглотки [1, 3, 7]. В частности, для этого успешно применяют пробиотики, изучение влияния которых на микрофлору небных миндалин при лечении хронического тонзиллита, является перспективным направлением [9, 13, 14].

Цель исследования – повышение эффективности лечения больных с различными формами хронического тонзиллита методом антимикробной фотодинамической терапии.

Материалы и методы

Предварительно, перед клинической фазой нашей работы, мы проводили микробиологические исследования, которые показали, что микробиологический материал, полученный со слизистых оболочек небных миндалин у пациентов, страдавших различными формами ХТ, обладал высокой степенью пленкообразования. Результаты микробиологического исследования у всех наблюдавшихся нами больных были схожими, что позволило нам дать их общую характеристику – из лакун небных миндалин были выделены: стрептококки группы *Viridians*, *Neisseria spp.*, *S. aureus*, *S.* группы D, *Enterococcus sp.*,

Enterobacteriaceae и *Candida albicans* в концентрации 10^5 – 10^8 КОЕ/мл. В дальнейшем, с учетом полученных микробиологических данных, была проведена экспериментальная работа по изучению действия ферментов (трипсин, лидаза, рибонуклеаза) на зрелые бактериальные биопленки, сформированные монокультурами и их ассоциациями. Все ферменты были приготовлены в жидком виде в соответствии с инструкцией. Время воздействия фермента на биопленку – 60 мин. Результаты разрушения биопленки от воздействия ферментом определяли по концентрации микроорганизмов, высвободившихся из биопленки по отношению к таковым результатам в группе контроля, где воздействия ферментов на подобную биопленку не было.

Сравнительный анализ показал, что трипсин и рибонуклеаза за 60 мин воздействия практически не разрушали бактериальные биопленки, сформированные монокультурами. Титр микроорганизмов в опытных и контрольных образцах был одинаков и составил 10^5 КОЕ/мл. Подобный результат был получен и после воздействия этих ферментов на биопленки, сформированные ассоциациями коагулазонегативных стафилококков с энтерококками, в одном случае, а в другом – со стрептококками группы Д.

Однако после воздействия лидазы на биопленки в тех же условиях, что для трипсина или рибонуклеазы, титр микроорганизмов снижался на 2 разведения в сравнении с контролем, что указывало на разрушение структуры биопленки.

Таким образом, для разрушения бактериальной биопленки в наших исследованиях более эффективным ферментом оказалась лидаза. Этот факт и послужил обоснованием в выборе данного препарата для его применения в клинических условиях.

В клинической части нашего исследования приняли участие 43 пациента в возрасте 18–55 лет. Все пациенты страдали ХТ (простая форма – 14 человек, токсико-аллергическая форма I (ТАФ I) – 12 человек и токсико-аллергическая форма II (ТАФ II) – 6 человек). При сборе анамнеза обращали внимание на: возраст больных, в котором у них впервые был диагностирован хронический тонзиллит, давность заболевания, характер проводимого ранее лечения и его эффективность, частоту рецидивов, наличие и длительность субфебрилитета. Так же учитывали наличие в анамнезе сопутствующих и сопряженных заболеваний. При осмотре оценивали состояние слизистой оболочки полости рта, цвет небных дужек, величину и структуру небных миндалин, характер содержимого небных миндалин, так же оценивали состояние регионарных лимфатических узлов. Диагноз устанавливали на основании жалоб больного, анамнеза, данных клинического и лабораторного обследования, наличия сочетанных или сопряженных заболеваний.

По способу проведенной нами терапии ХТ все пациенты были разделены на три группы. Первую группу составили 13 пациентов (6 – с простой формой ХТ, 4 – с ТАФ I, 3 – с ТАФ II), получавшие курс традиционной консервативной терапии (промывание лакун небных миндалин, антибактериальную терапию, физиолечение и др.).

Во вторую группу вошли 16 пациентов (8 – с простой формой ХТ, 5 – с ТАФ I, 3 – с ТАФ II), которым сначала в лакуны небных миндалин вводили лидазу (64 ЕД в 10 мл 0,9% физиологического раствора на 1 небную миндалину) и выдерживали паузу в 40–60 мин, после чего проводили сеанс АФДТ. Для этого в лакуны небных миндалин вводили фотосенсибилизатор (ФС) (0,35% раствор Радахлорина). Через 40–60 мин остатки ФС удаляли путем полоскания полости рта физиологическим раствором (для исключения эффекта экранирования) и небные миндалины поочередно облучали лазерным излучением λ -662 нм с плотностью мощности ≈ 360 мВт/см² в течение 6 минут, что позволяло достичь плотности дозы порядка 130 Дж/см² (аппарат «Лакта-Милон»).

Третью группу составили 14 пациентов (7 – с простой формой ХТ, 4 – с ТАФ I, 3 – с ТАФ II), которым в тех же условиях, что и пациентам второй группы, была выполнена АФДТ, но затем проводили курсовое лечение пробиотиком «Флорин Форте» (один пакетик препарата содержит *Bifidobacterium bifidum* 5×10^7 КОЕ и *Lactobacillus plantarum* 5×10^7 + лактозы моногидрат – до 0,85 г). Пациент самостоятельно три раза в день в течение 10 дней проводил полоскания (2 пакетика на 50 мл воды) и трижды в день выпивал такую же дозу препарата. Подобный курс приема «Флорин Форте» повторяли каждые три месяца в течение всего периода наблюдения.

Микробиологический контроль у всех больных, участвовавших в исследовании, осуществляли на 5, 12, 24-е сут после АФДТ и через 6–12 мес.

Катамнез во всех группах больных составлял 6–12 мес. Микробиологические и клинические исследования были проведены нами на базе ЛОР-клиники, консультативно-диагностического отделения и лаборатории клинической микробиологии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Результаты и обсуждение

У всех 13 пациентов первой группы после проведенного консервативного лечения частота рецидивов в последующие 6–12 мес. осталась прежней (1–2 обострения ХТ за 3–4 мес.). Мезофарингоскопия выявляла незначительное уменьшение гиперемии слизистой оболочки небных миндалин и небных дужек. Перечень микрофлоры небных миндалин на 5, 9 и 12-е сут остался прежним, но концентрация выделенных микроорганизмов снизилась на 1–2 разведения. Через 5 мес. все проявления ХТ у больных этой группы вернулись на прежний уровень. У трех пациентов, страдавших ХТ ТАФ II, жалобы, клинические проявления и микробиологический пейзаж после АФДТ оставались без изменений. В последующие 5–6 мес. ввиду неэффективности АФДТ им была выполнена тонзиллэктомия.

У пациентов второй группы, которым перед АФДТ в лакуны небных миндалин вводили раствор лидазы, на 5, 9 и 12-е сутки после сеанса АФДТ отмечали положительную динамику, характеризующуюся отсутствием выраженных признаков воспаления, что коррелировало со значительным снижением частоты встречаемости и концентрации выделенных микроорганизмов на 2 разведения. У 14 больных через 7–12 мес. после АФДТ результаты мезофарингоскопии указывали на отсутс-

твие гиперемии слизистой оболочки небных миндалин, уменьшение валикообразного утолщения передних небных дужек, исчезновение явлений шейного лимфаденита и отсутствие казеозных пробок, а микробиологические результаты характеризовались выделением стрептококков группы *Viridians* в концентрации 10^6 КОЕ/мл, стрептококков группы D и *Candida albicans* – в концентрации 10^3 КОЕ/мл. Обострение ХТ за контрольный период было отмечено у троих пациентов. Оно протекало в более легкой форме, с умеренными болями в горле и субфебрильной температурой. Однако у двоих больных из 2-й группы, страдавших ХТ ТАФ II, жалобы, клинические проявления и микробиологический пейзаж после АФДТ оставались без изменений. Позднее, через 4–6 месяцев, ввиду неэффективности АФДТ им была выполнена тонзиллэктомия.

У всех больных третьей группы (14 человек) после лечения методом АФДТ в комплексе с лидазой и с последующим использованием пробиотика «Флорин Форте» на 5–9-е сут отсутствовала гиперемия слизистой оболочки небных миндалин, к 12-м сут было отмечено полное купирование реактивных явлений, отсутствие запаха изо рта и наличия казеозных пробок, уменьшение шейного лимфаденита. Микробиологическое исследование показало наличие на слизистой оболочке стрептококков группы *Viridians* и *Neisseria spp.* в концентрации 10^5 – 10^6 КОЕ/мл, *Bifidobacterium bifidum* в концентрации 10^4 – 10^5 КОЕ/мл и *Lactobacillus plantarum* в концентрации 10^3 – 10^4 КОЕ/мл (стабилизатор данной экониши) и отсутствие условных патогенов (*S. aureus*, *Candida albicans*). Клиническая картина в последующие 8–12 мес. после АФДТ оставалась прежней, при микробиологическом исследовании отмечали полную элиминацию условных патогенов с сохранением стрептококков группы *Viridians* и *Neisseria spp.*, а также лакто- и бифидобактерий.

Двое пациентов из 3-й группы, страдавшие ХТ ТАФ II, после проведенной АФДТ в последующие 6–12 мес. отметили явное улучшение общего самочувствия: температура тела нормализовалась, обострения ХТ не повторялись, запах изо рта и казеозные пробки исчезли, исчезла боль в крупных и мелких суставах, улучшились все лабораторные показатели, в т. ч. антистрептолизин-О, ревматоидный фактор, С-реактивный белок. При мезофарингоскопии отмечено уменьшение отека в области угла между небно-язычной и небно-глоточной дужками и гиперемии слизистой оболочки небных миндалин. Отмечено уменьшение валикообразного утолщения передних небных дужек в размерах и снижения количества и размеров казеозных пробок и запаха изо рта. У двух пациентов, страдающих хроническим гломерулонефритом, в последующие 9 мес. после АФДТ рецидивов почечного заболевания не возникло. Одному пациенту, страдающему ХТ ТАФ II и прошедшему курс лечения методом АФДТ в комплексе с лидазой и пробиотиком, в последующем была выполнена тонзиллэктомия.

Выводы

Проведенные нами микробиологические и клинические исследования указывают на возможность повышения

эффективности АФДТ хронического тонзиллита путем превентивного воздействия ферментом (лидаза) и пробиотиком («Флорин форте»). Лидаза, воздействуя на слизистую оболочку небных миндалин, способствует разрушению межклеточного матрикса биопленки и снижению ее резистентности к фотодинамическому воздействию. Применение пробиотика «Флорин форте» у больных, страдающих различными формами ХТ, свидетельствует о его положительном влиянии на микробиологический пейзаж данной экониши, а также пролонгирование периода ремиссии, при этом побочных нежелательных и аллергических реакций зарегистрировано не было.

Литература

1. Гаращенко Т.И., Богомилский М.Р. Топические бактериальные лизаты в профилактике воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей у детей. // Фарматека: Межд. мед. журн. 2002. № 11. С. 49–53.
2. Дмитриева И.А. Клинико-иммуноморфологическая оценка эффективности лечения хронического тонзиллита антисептическими препаратами: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2007.
3. Кондракова О.А., Ещина А.С., Дмитриева Н.Ф. и др. Чувствительность бета-гемолитических стрептококков к антибиотикам и альтернативным препаратам // Антибиот. и химиотер. 1998. Т. 43. № 7. С. 26–30.
4. Крюков А.И., Товмасын А.С., Жуховицкий В.Г. Роль микрофлоры в этиологии хронического тонзиллита // Вестн. оториноларингол. 2010. № 3. С. 4–6.
5. Пащинин А.Н. Клинико-иммуноморфологическая оценка эффективности лечения хронического тонзиллита препаратом мирамистин в различных концентрациях / А.Н. Пащинин, В.М. Петренко, И.А. Дмитриева // Росс. оториноларингол. 2007. № 4. С. 27–34.
6. Пикуза О.И., Шошина И.Г., Гervазиева В.Б. Характеристика колонизационной резистентности микрофлоры ротовой полости при применении препарата томицид // Педиатрия. 1999. № 3. С. 101–104.
7. Полякова Т.С., Магомедов М.М., Артемьев М.Е. и др. Новый подход к лечению хронических заболеваний глотки // Лечащий врач. 2002. № 4. С. 64–65.
8. Преображенский Б.С., Попова Г.Н. Ангина, хронический тонзиллит и сопряженные с ними общие заболевания. М.: Медицина, 1970. 383 с.
9. Руш К., Руш Ф. Микробиологическая терапия // Теоретические основы и практическое применение / Пер. с нем. М: Арнебия. 2003. С. 97–103.
10. Солдатов И.Б. Хронический неспецифический тонзиллит: рук. по оториноларингологии. М., 1997. С. 348–353.
11. Costerton J.W. Microbial biofilms // Ann. Rev. Microbiol. 1995. Vol. 49. P. 711–745.
12. Flemming H.C., Neu T.R., Wozniak D.J. The EPS matrix: the «house of biofilm cells» // J. Bacteriol. 2007. Vol. 189. № 22. P. 7945–7947.
13. Tagg J.R., Dierksen K.P. Bacterial replacement therapy: adapting «germ warfare» to infection prevention // Trends Biotechnol. 2003. Vol. 21. № 5. P. 217–223.
14. Tagg J.R. Prevention of streptococcal pharyngitis by anti-Streptococcus pyogenes bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) produced by Streptococcus salivarius // Indian J. Med. Res. 2004. Vol. 119. P. 13–16.

Поступила в редакцию 23.06.2015 г.

Для контактов: Логунова Елена Витальевна
E-mail: mmaelena@rambler.ru