УДК 616.211-002: 616.714/716-001

Егорова Е.В., Пересторонин В.И., Цыбиков Н.Н.

УЧАСТИЕ ШАПЕРОНА - HSP-70 И АУТОАНТИТЕЛ К НЕМУ В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГНОЙНОГО РИНОСИНУСИТА

ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, Чита

У здоровых лиц и больных хроническим гнойным риносинуситом определяли уровень белка теплового шока HSP-70 и аутоантител классов IgG и sIgA к нему в сыворотке крови и назальном секрете. Установлено, что концентрация HSP-70 и аутоантител класса IgG в сыворотке крови значительно выше у больных ХГРС.
Ключевые слова: *Хронический гнойный риносинусит, белок теплового шока HSP-70, аутоантитела, воспаление.*

Egorova E.V., Perestoronin V.I., Tsybikov N.N.

PART OF CHAPERONE - HSP-70 AND AUTOANTIBODIES TO IT IN THE DEVELOPMENT OF CHRONIC PURULENT RHINOSINUSITIS

The level of heat shock protein HSP-70 and that of antibodies IgG and sIgA to HSP was determined in serum and nasal secretions at healthy people and patients with chronic purulent rhinosinusitis. The concentration of HSP-70 and of IgG autoantibodies in the serum is significantly higher in CPRS patients.
Keywords: *Chronic purulent rhinosinusitis, heat shock protein HSP-70, autoantibodies, inflammation.*

Известно, что основной причиной развития хронического гнойного риносинусита (ХГРС) является иммунная недостаточность, как на системном, так и местном уровне [1, 3, 8]. Главным звеном в лечении обострения ХГРС является системная антибактериальная терапия, длительное применение которой сопровождается повышением резистентности микроорганизмов и рецидивирующему течению[5, 7]. Исходя из сказанного, очевидно, что раскрытие новых звеньев механизма развития ХГРС представляется актуальным, так как открывает перспективы новых путей патогенетической терапии этого заболевания. Доказано, что белок теплового шока (HSP-70, шаперон, стресс-белок) не может не экспрессироваться на слизистой носа и микроорганизмах [2]. Стресс-белок обладает не только защитными свойствами, но и способен запускать новые звенья патогенеза ХГРС и, являясь высокоиммуногенным, в силу эволюционной стабильности, может индуцировать выработку аутоантител (аАт) [6]. Однако до сих пор роль HSP-70 при ХГРС остается неизвестной, что и составило предмет нашего исследования.

Цель работы - оценить уровень HSP-70, аутоантител (аАт) классов IgG и sIgA к нему в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных ХГРС.

Для достижения поставленной цели последовательно решались следующие задачи:

1. Параллельно исследовать уровень шаперона - HSP-70 в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых лиц и больных ХГРС.
2. Определить концентрацию аАт классов IgG в сыворотке крови и sIgA к HSP-70 в назальном секрете у здоровых и больных ХГРС.

Материалы и методы исследования

Под нашим наблюдением находилось 20 больных ХГРС в возрасте от 18 до 55 лет. Для данного исследования мы отобрали больных с давностью заболевания от 5 до 20 лет с частыми рецидивами от 2 до 5 раз в год. Контрольная группа состояла из

20 здоровых лиц без сопутствующей и ЛОР патологии.

Материалом для иммунологического исследования служили сыворотка крови и назальный секрет здоровых и больных ХГРС. Для получения смывов из полости носа пациенту в каждый общий носовой ход на 10 минут вводили сухой ватный тампон, который после извлечения переносили в пробирку, содержащую 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида. Через 30 мин тампоны тщательно отжимали, и полученный смыв использовали для определения HSP-70, аутоантител (аАт) классов IgG и sIgA к нему [3]. Концентрацию HSP-70 в сыворотке крови определяли моноклональными антителами методом ИФА. Уровень аАт класса IgG в сыворотке крови и sIgA в назальном секрете определяли оригинальным методом. Лунки полистероловых планшетов сенсибилизировали HSP-70 (Assay Designs., USA, Michigan) в количестве 20 мкг в объеме 200 мкл забуференного физиологического раствора. После 30 минутной инкубации при комнатной температуре планшет трижды отмывали дистиллированной водой, затем вводили 20 мкг глицина на одну лунку для связывания реактивноспособных участков полистирола, трижды отмывали и вводили по 200 мкл исследуемой сыворотки или смыва полости носа разведенных в соотношении 1:100 забуференнным физиологическим раствором и после инкубации вновь трижды отмывали лунки планшетов. Аутоантитела к HSP-70 выявляли анти-IgG-человеческими антителами (Вектор-Бест, г. Новосибирск) в сыворотке крови и анти - sIgA (вектор-Бест) в смывах по стандартной методике. Полученные результаты выражали в единицах оптической плотности.

Статистическая обработка данных осуществлена при помощи пакета программ "Biostat" и Microsoft Excel 2003 (Microsoft Office 2003 for Windows XP Professional). При сравнении показателей иммуноглобулинов использовались методы непараметрической статистики, в связи с ненормальным распределением значений в вариационных рядах. Числовые данные приведены в виде медианы (Ме) и интерквартильного размаха (25-го; 75-го процентилей). Для сравнения двух независимых выборочных совокупностей применялся критерий Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение

Содержание HSP-70 в сыворотке здоровых людей в среднем составило 0,17 нг/мл, а в назальном секрете 0,05 нг/мл. У больных ХГРС резко возрастает уровень HSP-70 в сыворотке крови в 3,8 раза, а в назальном секрете повышается в 3,2 раза. (таблица 1).

Таблица 1

Уровень HSP-70 в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных хроническим гнойным риносинуситом

Параметры нг/мл	Здоровые n=20	ХГРС n=20
HSP-70 в сыворотке крови	0,17 (0,08; 0,32)	0,65 (0,50; 0,74) p<0,001
HSP-70 в назальном секрете	0,05 (0,01; 0,07)	0,16 (0,09; 0,31)

Примечание: n - число обследованных; p - по сравнению с контролем.

Как видно из таблицы 2 у здоровых лиц аАт к HSP -70 обнаруживались как в сыворотке крови, так и назальном секрете примерно в одинаковых концентрациях. У больных ХГРС зарегистрирован максимальный уровень sIgA относительно HSP-70 в сыворотке крови, а в назальном секрете практически не отличается от нормы.

Таблица 2

Уровень аАт к HSP-70 в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных хроническим гнойным риносинуситом (Ме (25-й; 75-й процентили))

Параметры нг/мл	Здоровые n=20	ХГРС до лечения n=20
аАт класса IgG к HSP-70 в сыворотке крови	0,11 0,05	0,55 0,11 p<0,001
аАт класса sIgA к HSP-70 в назальном секрете	0,14 0,02	0,13 0,01

Примечание: n - число обследованных; p - по сравнению с контролем.

Таким образом, предполагается, что значительное повышение HSP-70 как в сыворотке крови, так и назальном секрете при ХГРС объяснимо и связано с гиперпродукцией HSP-70 как фагоцитирующими клетками, так и микроорганизмами. Вероятно, в продукции белка теплового шока принимают участие и другие клетки в очаге воспаления: эндотелиоциты, эпителиальные и клетки соединительной ткани, вовлекаемые в патологические процессы.

Наряду со сказанным, уровень аАт IgG к HSP-70 в сыворотке крови возрастает в 5 раз, в то время как в назальном секрете концентрация аАт sIgA не меняется. В первом варианте увеличение аАт IgG не вызывает удивления, так как HSP-70 являясь эволюционно устойчивыми белками вызывают значимый гипериммунный ответ, что и проявляется повышением сывороточных аАт практически в 5 раз. Местно в полости носа нет ожидаемой увеличенной продукции аАт sIgA, что, по нашему мнению, объясняется постоянным присутствием микроорганизмов на слизистой полости носа и формированием иммунной толерантности.

Выводы.

1. У здоровых лиц HSP-70 выявляется в сыворотке крови и назальном секрете и значительно возрастает при ХГРС.
2. При ХГРС уровень аАт класса IgG к HSP-70 в крови возрастает в 5 раз, а в назальном секрете количество аАт класса sIgA не изменяется.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азнабаева Л.Ф. Циклоферон в терапии ринита и синусита / Л.Ф. Азнабаева, Н.А. Арефьева, А.Л.Коваленко. - СПб., 2000. - 40 с.
2. Андреева Л.И. Теоретическое и прикладное значение белков теплового шока 70 кДа; возможность практического применения и фармакологической коррекции. / / Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. 2002. Т 1. №2. С. 2-18.
3. Арефьева Н.А. Иммунологические аспекты в оториноларингологии / Н.А. Арефьева, Ю.А. Медведев // Новости оториноларингологии и логопатологии. - 1997. - № 4 (12), С - 3-10.
4. Смирнова И. Н. Противовоспалительное действие ингаляций минеральных вод: целесообразность определения биохимических маркеров воспаления в назальном секрете / И. Н. Смирнова, Т. Н. Зарипова, Д. И. Кузьменко // Вопросы курортологии. - 2003. - № 4. - С. 20-23.
5. Особенности реагирования местного иммунитета слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух при гнойных риносинуситах / А.А. Тотолян [и др.] // Рос. Оториноларингология. - 2004. - № 6. - С. 111-114.
6. Содержание белка теплового шока-70 и аутоантител к нему при лечении одонтогенных абсцессов / Н.Н. Цыбиков [и др.] // Амбулаторная хирургия. - 2010. - N 1.- С. 49-51.
7. Шарипова Э.Р. Перспективы применения рекомбинантных цитокинов в лечении гнойных риносинуситов / Э.Р. Шарипова Н.А. Арефьева, Л.Ф. Азнабаева // Рос. ринология. - 2009. - № 2. - С. 23-24.
8. Abbanat D. Chronic sinusitis: risk factors for extensive disease / D. Abbanat, M. Macielag, K. Bush // Expert Opin. Investig Drugs. - 2003. - № 12. - P. 379-399.