

О.Ф. МЕЛЬНИКОВ, А.А. ЛАЙКО, А.Ю. БРЕДУН

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛОКАЛЬНОГО И СИСТЕМНОГО ИММУНИТЕТА НЁБНЫХ МИНДАЛИН ПРИ ИХ ГИПЕРТРОФИИ И ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ У ДЕТЕЙ

Сообщение 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ И ЗАЩИТНЫХ БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ НЕБНЫХ МИНДАЛИН И СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ГИПЕРТРОФИИ И ХРОНИЧЕСКОМ ТОНЗИЛЛИТЕ

*ГУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко АМН Украины»,
НМАПО им. П.Л. Шупика МЗ Украины*

К настоящему времени данные о важной роли нёбных миндалин в иммунитете, особенно в его мукозальной части, сконцентрировались в несколько теорий о значении лимфоэпителиальных структур глоточного кольца в защитно-приспособительных реакциях организма:

- участие (преимущественно за счет секреторного IgA) в формировании гуморального иммунитета слизистой оболочки (Brandtzaeg, 1992);

- информация системного иммунитета об антигенном составе верхних дыхательных путей (В.Н. Горбачевский, 1980);

- участие в механизмах противоопухолевой защиты (О.Ф. Мельников и соавт., 2001).

Особенно актуально проблемы лечения при заболеваниях нёбных миндалин стоят в детском возрасте, поскольку процессы адаптации организма к антигенам макромира, в которых миндалины глоточного кольца принимают активнейшее участие, происходят наиболее интенсивно в этом возрастном периоде.

Одним из самых распространенных отклонений в клиническом состоянии миндалин, в том числе и нёбных, в детском возрасте является состояние гипертрофии. В силу клинической необходимости нёбные миндалины достаточно часто становятся объектом хирургического вмешательства, состоящего в частичной резекции их ткани.

Возникающее постоперационное состояние этого органа едва ли можно охарактеризовать как орган с сохраненной функцией (Э.В. Гюллинг, О.Ф. Мельников, 1972; Л.М. Ковалева и соавт., 1985; Н.М. Хмельницкая, 1990), а учитывая современные данные о его роли, можно полагать и последующую локальную недостаточность местного иммунитета слизистой оболочки, особенно в плане снижения секреторного IgA (Д.И. Заболотный, О.Ф. Мельников, 1999). Основные патологические отклонения в состоянии миндалин встречаются наиболее часто в виде хронического воспаления нёбных миндалин либо их гипертрофии. Патоморфологическая характеристика и иммунологические исследования, проведенные в последние десятилетия, не определили сути различий между этими состояниями (Н.М. Хмельницкая, 1990; К.А. Хоцяновский, 2002; Lopez-Gonzalez, 1998), а с разработкой новых направлений в иммунологии появились реальные возможности более объективной оценки состояния клеток миндалин, влияния на реакции системного и местного иммунитета пептидов, образующихся в нёбных миндалинах при их гипертрофии (ГНМ) и хроническом тонзиллите (ХТ).

В связи с изложенным была разработана программа клинико-иммунологических исследований по определению различий между гипертрофированными и воспален-

ными миндалинами у детей, где одной из составных ее частей является изучение уровня про- и противовоспалительных цитокинов, антител к микробным антигенам (гемолитического стрептококка, клебсиеллы и золотистого стафилококка) в небных миндалинах и сыворотке крови при гипертрофии и хроническом тонзиллите, что и явилось целью работы, результаты которой представлены ниже.

Материал и методы исследований

Изучалось содержание цитокинов и защитных белков в клетках миндалин и сыворотке крови у детей с гипертрофией III степени и при хроническом декомпенсированном тонзиллите (по классификации И.Б. Солдатова, 1975). Всего обследовано 15 больных ХТ и 18 пациентов с ГНМ в возрасте от 7 до 14 лет. После хирургического удаления кусочки ткани миндалин тут же помещались в среду 199 с гентамицином (100 мкг/мл), выдерживались при 4⁰С, механически гомогенизировались и фильтровались через нейлоновое сито, подсчитывалась концентрация клеток, доводилась до стандартного содержания в 1 мл и лизировались водой. Изотоничность восстанавливалась по NaCl, освобождение от клеток и их обрывков производилось путем центрифугирования (О.Ф. Мельников, 1981). Супернатанты замораживались и хранились 1 мес при температуре -20⁰ С, после чего в них определялась концентрация цитокинов и других пептидов, а также белков. Сыворотку мы получали из венозной крови в

день перед проведением хирургического вмешательства.

В лизатах клеток и сыворотке с применением метода ИФА и наборов реактивов фирм «Протеиновый контур», «Цитокин» и «Вектор-Бест» определяли содержание интерлейкинов-1, 10, фактора некроза опухоли (ФНО-α), гамма-интерферона (ГИФ) и лактоферрина (все реактивы – производства РФ). В качестве анализатора использовался ридер Stat-Fax-2100 (США). Антитела к стрептолизину-О исследовались в реакции нейтрализации в микрометоде (О.Ф. Мельников, 1981), антитела к протеину-А золотистого стафилококка и протеогликанам клебсиеллы – в реакции пассивной гемагглютинации с применением наборов ЛАТЕСТ (ГНЦ Ин-т иммунологии, Москва, РФ). Все результаты обработаны статистически с помощью метода углового преобразования по Фишеру (Е.В. Гублер, 1978).

Результаты и их обсуждение

Данные о содержании антител к микробным антигенам в лизатах клеток из небных миндалин и сыворотке крови у больных ХТ и с ГНМ представлены в табл. 1. Как следует из ее данных, наиболее высокий уровень антител был отмечен в отношении стрептолизина-О в сыворотке крови и лизатах клеток миндалин у пациентов с ГНМ по сравнению с таковыми у больных ХТ. Антитела к протеину А и протеогликанам клебсиеллы в сыворотке крови были более низкими, чем к стрептолизину-О, и в большинстве исследованных лизатов не определялись.

Таблица 1

Содержание антител к микробным антигенам в лизатах из клеток небных миндалин и сыворотке крови у больных ХТ и с ГНМ

Группы	Lg ₂ титра антител (среднее) к микробным антигенам:					
	стрептолизин-О гемол. стрептококка		протеин А зол. стаф.		протеогликаны клебсиеллы	
	лизат	сыворотка	лизат	сыворотка	лизат	сыворотка
ХТ	1,3	4,5	0	4,0	0	2,1
ГНМ	3,5*	8,5*	0	3,25	1,2	3,6

Концентрация интерлейкина-1 β в сыворотке крови у обследованных лиц была минимальной (< 2 пг/мл), а в лизатах клеток обеих групп находилась примерно на одинаковом уровне, тогда как содержание другого провоспалительного цитокина – ФНО- α в лизатах клеток из ГНМ была в 2 раза более высокой. Уровень ГИФ был более

высоким в сыворотке крови у больных хроническим тонзиллитом, а в лизатах из клеток обеих групп был примерно одинаковым. Противовоспалительный цитокин – интерлейкин-10 определялся только в сыворотке у пациентов обеих групп и был выше у больных ХТ. Эти данные представлены в табл. 2.

Таблица 2

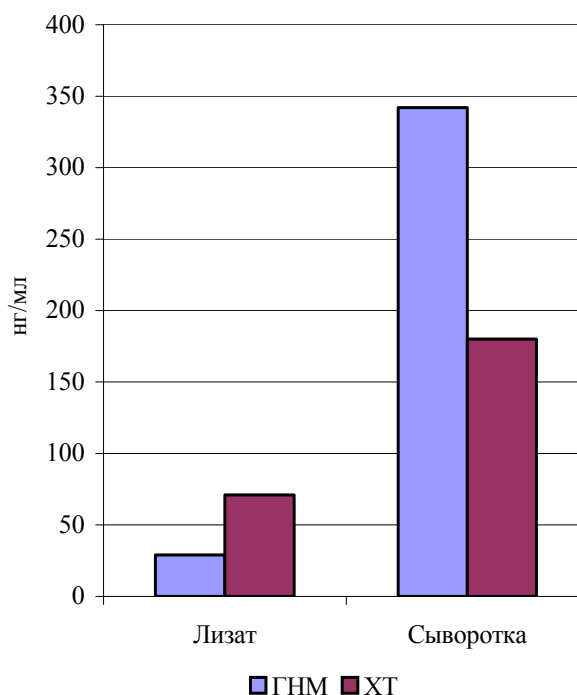
Содержание цитокинов в лизатах из клеток небных миндалин и сыворотке крови у больных ХТ и с ГНМ

Группы	Концентрация цитокинов, пг/мл							
	ИЛ-1 β		ИЛ-10		ФНО- α		интерферон- γ	
	лизат	сыворотка	лизат	сыворотка	лизат	сыворотка	лизат	сыворотка
ХТ	46,0	0,2	0	2,1	130,4	34,2	11,2	8,2
ГНМ	41,6	0,2	0	0	236,0*	29,3	36,5*	19,6*

Примечание: достоверность дана между аналогичными субстратами при ХТ и ГНМ (*– p <0,05).

При определении концентрации лактоферрина в лизатах и сыворотке пациентов с ГНМ и ХТ было установлено следующее (рисунок). Содержание этого железосодержащего продефензина в лизатах клеток у больных ХТ было почти в 3 раза выше, чем у обследуемых с ГНМ, тогда как в сыворотке крови выявлялись противоположные достоверные тенденции.

Полученные результаты свидетельствуют о выраженной иммунологической активности ткани миндалин как при ГНМ, так и при ХТ. Вместе с тем более интенсивное антителообразование, происходящее в гипертрофированных миндалинах, говорит и о большем иммунологическом их потенциале. Наряду с этим, исследованный спектр цитокинов в небных миндалинах указывает на то, что воспалительная реакция в миндалинах у пациентов с ГНМ не менее выражена, чем у больных ХТ, судя по содержанию интерлейкина-1 (А.В. Демьянов и соавт., 2003).



Содержание лактоферрина в лизатах и сыворотке крови у пациентов с ГНМ и ХТ.

Анализируя данные о содержании ФНО- α в сыворотке крови у обследуемых обеих групп, который находился в пределах нормы (Е.А. Останин и соавт., 2005), а в лизатах из клеток у пациентов с ГНМ его показатель был более высоким, чем в субстратах при ХТ, можно предположить, что и в ГНМ также осуществляется воспалительная реакция в ответ, в основном, на вирусные антигены. Об этом косвенно свидетельствует высокий уровень гамма-интерферона в

лизатах из клеток миндалин у пациентов с ГНМ по сравнению с таковым у больных ХТ. Вместе с тем для выяснения роли отдельных составных иммунитета и аллергии в иммунопатогенезе как ГНМ, так и ХТ необходимы дальнейшие исследования по определению спектра отклонений в содержании и функциональной активности в миндалинах при обоих состояниях молекулярных факторов, имеющих значение в реализации защитных реакций.

1. Горбачевский В.Н. Клинико-экспериментальное изучение роли небных миндалин в защитных реакциях организма: Автореф. дис. ... докт-ра мед. наук (14.00.04). – Киев, 1980. – 31 с.
2. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
3. Гюллинг Э.В., Мельников О.Ф. Специфическая иммунологическая реактивность небных миндалин в условиях воспаления и регенерации // Вестн. оториноларингологии. – 1972. – № 6. – С.70-72.
4. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.Г. Диагностическая ценность исследований уровня цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление. – 2003. – № 3. – С.20-28.
5. Заболотный Д.И., Мельников О.Ф. Теоретические аспекты генеза и терапии хронического тонзиллита. – К.: Здоров'я, 1999. – 145 с.
6. Ковалева Л.М., Мальцева Г.С., Хмельницкая Н.М. Отдаленные результаты хирургического лечения детей с гиперплазией небных миндалин // Журн. ушных, носовых и горловых болезней. – 1985. – №2. – С.27-30.
7. Мельников О.Ф. Современные представления о роли лимфоглоточного кольца в реакциях иммунитета в норме и при патологии // Імунологія та алергологія. – 1998. – № 1-2. – С.64-70.
8. Мельников О.Ф. Иммунологические аспекты генеза хронического тонзиллита и регуляции функциональной активности небных миндалин // Автореф. дис. ... докт-ра мед. наук (14.00.16). – К.: Институт физиологии АН УССР, 1981. – 30 с.
9. Мельников О.Ф., Самбур М.Б., Веремеенко К.Н., Кищук В.В., Заяц Т.А., Тимченко М.Д. Небные миндалины и противоопухолевая резистентность организма // Онкологія. – 2001. – Т.3, № 2-3. – С.151-153.
10. Останин А.А., Черных Е.Р. Сравнительная оценка уровня 17 цитокинов в сыворотке и цельной крови здоровых доноров методом проточной цитофлюорометрии // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т.4, № 2. – С.25-29.
11. Солдатов И.Б. Хронический тонзиллит и другие очаги инфекции верхних дыхательных путей // Тр. VII съезда отоларингологов СССР. – Тбилиси, 1975. – С.60-66.
12. Хмельницкая Н.М. Морфологические изменения гипертрофированных небных миндалин при различных формах консервативного лечения // Арх. пат. – 1990. – № 5. – С.36-40.
13. Хоцяновський К.А. Тактика лікування дітей з гіпертрофією піднебінних мигдаликів : Автореф. дис. ... канд. мед. наук (14.01.19). – Київ. – 2002. – 17 с.
14. Brandtzaeg P. Immunology and immunopathology of tonsils // Adv. ORL (Basel). – 1992. – В. 47. – Р.64-75.
15. Lopez-Gonzalez MA., Torronteras S., Mata M., Delgado M. Bacteriology in infections and obstructive adenoid-tonsillar pathology // Acta Otolaryngol. Esp. – 1998. – В.49. – №1. – Р.41-44.

Поступила в редакцию 20.05.08.

© О.Ф. Мельников, А.А. Лайко, А.Ю. Бредун, 2008

**ІМУНОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА
ЛОКАЛЬНОГО І СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ
ПІДНЕБІННИХ МИГДАЛИКІВ ПРИ ЇХ
ГІПЕРТРОФІЇ ТА ХРОНІЧНОМУ
ЗАПАЛЕННІ У ДІТЕЙ**

Мельников О.Ф., Лайко А.А., Бредун О.Ю. (Київ)

Резюме

Досліджувався вміст цитокінів, лактоферина і антитіл до мікробних антигенів в лізатах клітин піднебінних мигдаликів та в сироватці крові у дітей з гіпертрофією піднебінних мигдаликів і хронічним тонзилітом. Отримані дані свідчать про те, що у гіпертрофованих мигдаликах процеси антитілоутворення до мікробних антигенів, особливо гемолітичного стрептокока, відбуваються значно інтенсивніше, ніж при хронічному тонзиліті. Разом з тим, вміст прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ФНО- α в гіпертрофованих мигдаликах знаходиться на однаковому або навіть вищому рівні, що у поєднанні з підвищеною концентрацією інтерферона- γ в гіпертрофованих мигдаликах може свідчити на користь напруження в них противірусного імунітету.

**IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTIC OF
LOCAL AND SYSTEM IMMUNITY UNDER
PALATINE TONSILS BY ITS HYPERTROPHY
AND CHRONIC INFLAMMATION IN
CHILDREN**

Melnikov O.F., Layko A.A., Bredyn O.Yu. (Kyiv)

Summary

It was investigated the content of cytokines, lactoferrin and antibodies to microbe antigens in the lysate of cells of under palatine tonsils and in the blood serum in children with hypertrophy of under palatine tonsils and chronic tonsillitis. Received data witnesses that in the hypertrophic tonsils the processes of antibodies formation to the microbial antigens, especially to the hemolytic streptococcus, is happened considerably intensive than during the chronic tonsillitis. But, the content of inflammation cytokines ІЛ-1 β , ФНО- α in the hypertrophic tonsils is the same or a little bit higher, that in combination with the higher concentration of interferon- γ in the hypertrophic tonsils can witness about anti-virus immunity.