

*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 3.**

#### **ФАКТОРЫ АЛЛЕРГИИ В РОТОГЛОТОЧНОМ СЕКРЕТЕ, КЛЕТКАХ НЁБНЫХ МИНДАЛИН И СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТОНЗИЛЛИТЕ И ГИПЕРТРОФИИ НЁБНЫХ МИНДАЛИН У ДЕТЕЙ**

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

О роли аллергизации организма при инфекционно-воспалительных заболеваниях лимфоэпителиальных структур глоточного кольца предполагалось и доказывалось давно, что послужило основанием не только для создания новых подходов к лечению, но и классификационных признаков этих заболеваний (Б.С. Преображенский, Г.Н. Попова, 1970; А.Е. Вершигора, 1971; Э.В. Гюллинг, О.Ф. Мельников, 1974; О.Ф. Мельников, 1981; Ramirez, et al., 1997).

Были получены данные о различной степени выраженности микробной аллергии в самих миндалинах при хроническом тонзиллите у детей и взрослых (О.Ф. Мельников, 1981), при этом степень воспалительных морфо-функциональных изменений в миндалинах при гипертрофии была минимальной (Н.М. Хмельницкая, 1990). Вместе с тем существенных отличий в содержании «факторов аллергии», которые бы могли иметь патогенетическое значение и служить дополнительными дифференциально-диагностическими критериями между гипертрофией миндалин (ГМ) и хроническим тонзиллитом (ХТ), до настоящего времени не выявлено. В связи с изложенным целью настоящей работы было определение таких факторов, как содержание IgE и IgG<sub>4</sub> в лизатах и сыворотке крови, наличие фактора торможения лейкоцитарной миграции (LIF-leukocytes inhibitory factor) в слюне и сыво-

ротке крови, а также присутствие в миндалинах и периферической крови клеток со специфическим цитолитическим действием против мишеней, связанных с микробными антигенами.

#### **Материал и методы**

Исследованию подлежали ротоглоточный секрет (РС), лизаты клеток миндалин, полученные после их удаления согласно рекомендациям О.Ф. Мельникова (1981), и сыворотка крови у детей с гипертрофией небных миндалин при хроническом тонзиллите, а также РС и сыворотка крови у практически здоровых детей в возрасте от 6 до 17 лет.

Все материалы для исследований были взяты у больных в стадии клинической ремиссии заболевания, в 8-9 ч утра, натощак. Надосадочная фракция РС получена центрифугированием (120g) и хранилась до постановки тестов при 20<sup>0</sup>С в течение 20 дней.

Иммуноглобулины классов E и подкласса G<sub>4</sub>, находящиеся в жидкой фазе РС, исследовались иммуноферментным методом с применением анализатора Stat-Fax 2100 (США) и соответствующих наборов для определения IgE и IgG<sub>4</sub> (Хема Медика, РФ).

Наличие фактора сенсibilизации, ограничивающего движение лейкоцитов кро-

ви здоровых доноров, регистрировалось по торможению миграции лейкоцитов здоровых доноров из капилляров, как это описано Blank (1979). Степень торможения выявлялась планиметрически с выведением индекса торможения миграции. Достоверной считалась степень торможения на 33% (О.Ф. Мельников, 1981).

Активность неспецифических и специфических цитотолитических клеток изучалась в культуре *in vitro* при смешивании лимфоцитов крови или небных миндалин с ксеногенными эритроцитами, «нагруженными» белковыми антигенами  $\beta$ -гемолитического стрептококка, как это рекомендовано В.И. Милько и соавторами (1976). В качестве стрептококкового антигена использовался инактивированный стрептолизин-О, присоединенный к эритроциту с помощью таниновой кислоты (О.Ф. Мельников, 1981). Основные методические приемы данного метода выполнены в соответствии с рекомендациями О.Ф. Мельникова, Т.А. Заяц (1999). Степень деструкции мишеней выражалась в процентах из соотношения разрушенной части мишеней к общему числу мишеней, введенных в реакцию.

Результаты исследований обрабатывались с использованием непараметрического критерия «U» (Вилкоксона-Манна-

Уитни), согласно информационным данным Е.В. Гублер (1978).

### **Результаты исследований и их анализ**

Данные исследований свидетельствуют о том, что основной иммуноглобулиновый «фактор аллергии» – IgE обнаруживается в клетках небных миндалин у детей с гипертрофией в более высоком содержании по сравнению с аналогичным показателем у больных с хроническим тонзиллитом (табл. 1). Наряду с этим, в сыворотке крови пациентов обеих групп содержание этого иммуноглобулина было достоверно более высоким, чем у лиц контрольной группы. Однако содержание другого представителя реактивных антител – иммуноглобулина G (подкласс G<sub>4</sub>) в сыворотке крови было более высоким только у детей с ГНМ, а при хроническом тонзиллите оказалось на уровне контрольной группы (рис. 1).

Активность LIF, как представителя цитокинов, участвующих в реализации аллергических реакций замедленного типа, в сыворотке и в лизатах клеток из миндалин была более высокой у детей с хроническим тонзиллитом (табл. 2), а частота выявления активности LIF в PC также была выше при хроническом тонзиллите, чем при ГНМ и в контроле (рис. 2).

Таблица 1  
Содержание иммуноглобулина E в лизатах клеток и сыворотке крови детей с гипертрофией небных миндалин и при хроническом тонзиллите

Группы	Содержание IgE в образцах, МЕ/мл.		
	СЗ	ПК	Ри
Лизат из клеток тонзилл при ГНМ	1,78	0-3,5	
Лизат из клеток тонзилл при ХТ	0,77	0-2,4	<0,05
Сыворотка крови при ГНМ	110,2	34,5-420,0	<0,05
Сыворотка крови при ХТ	130,5	12,5-910,0	<0,05
Контрольная сыворотка	15,6	0-44,0	Исходная

Таблица 2  
Активность фактора торможения миграции лейкоцитов (LIF) в лизатах и сыворотке у обследованных различных групп

Группы	Индекс торможения миграции аллогенных лейкоцитов		
	СЗ	ПК	Ри
Лизат из клеток тонзилл при ГНМ	0,86	0,6-1,2	
Лизат из клеток тонзилл при ХТ	0,55	0,4-0,8	<0,05
Сыворотка крови при ГНМ	0,82	0,5-0,9	>0,05
Сыворотка крови при ХТ	0,41	0,2-0,9	<0,05
Контрольная сыворотка	0,9	0,6-1,4	Исходная

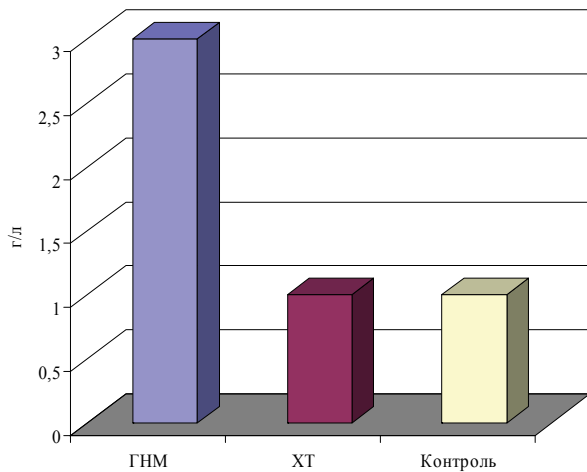


Рис. 1. Содержание подкласса G<sub>4</sub> в сыворотке крови у детей контрольной группы, при хроническом тонзиллите и гипертрофии нёбных миндалин.

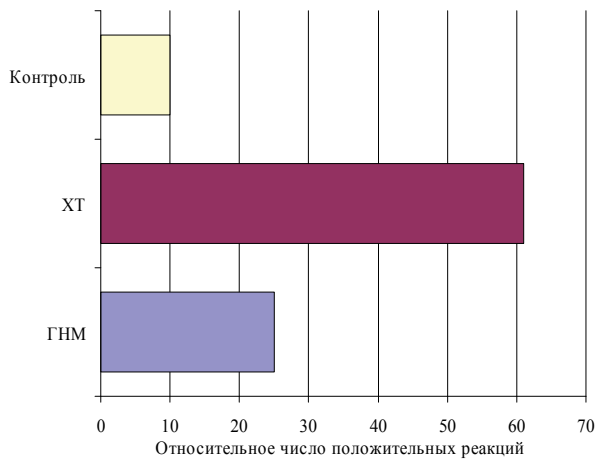
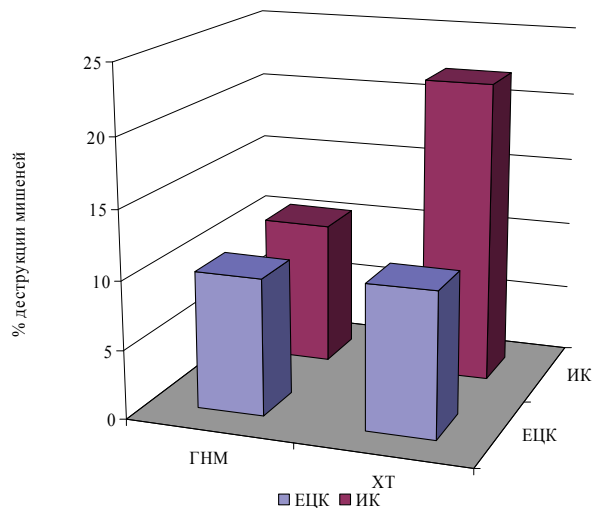


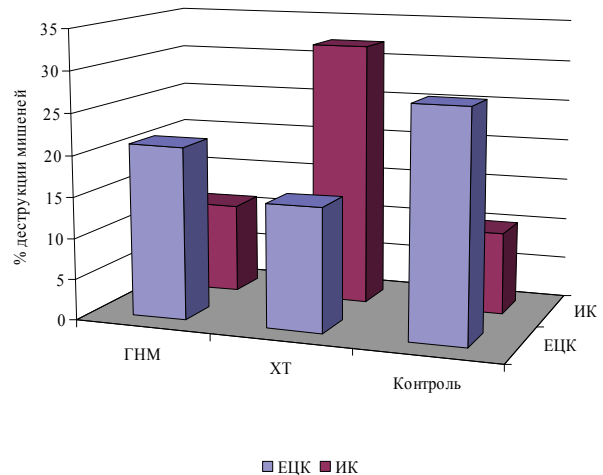
Рис. 2. Число выявления активности LIF в РС с уровнем торможения миграции >33% у пациентов контрольной группы, детей с гипертрофией нёбных миндалин и при хроническом тонзиллите.

Изучение естественной и специфической цитотоксической активности клеток нёбных миндалин и крови у детей обследованных групп показало (рис. 3), что деструктивная активность естественных цитотоксических клеток (ЕЦК) нёбных миндалин и крови как при ГНМ, так и при ХТ была примерно одинаковой (~ 10%). Клетки крови у больных этих групп обладали более высокой деструктивной активностью по сравнению с ЕЦК ткани, но по сравнению с контролем выявленные значения были недостоверными. Определением деструктивной активности в отношении гетерозритроцитов, несущих антигены гемолитического

стрептококка, было установлено, что активность иммунных киллеров нёбных миндалин при хроническом тонзиллите была выше, чем при гипертрофии (22,2 и 11,3% соответственно). Аналогичная закономерность выявлялась и при исследовании активности иммунных киллеров (ИК) крови – наиболее высокие уровни цитолитической активности были у больных ХТ (33,8%), наименьшие – в группе контроля и у детей с ГНМ (10,5 и 12,8%).



А. Клетки миндалин.



Б. Клетки крови.

Рис. 3. Естественная и иммунная цитолитическая активность клеток нёбных миндалин и крови у пациентов различных групп.

Сопоставляя результаты исследований по основным иммунологическим механизмам формирования реакций аллергии – образованию реактивных антител (гиперчув-

ствительность немедленного типа – ГНТ), наличие LIF, ИК (гиперчувствительность замедленного типа – ГЗТ) в системном и локальном плане, нетрудно заметить, что у детей с ГНМ преобладающими являются реакции ГНТ, что основывается на высоком уровне IgE в лизатах клеток миндалин у детей с ГНМ, а также более высоком, чем при хроническом тонзиллите, содержании IgG<sub>4</sub> в сыворотке крови у детей с ГНМ. Высокий уровень IgE в сыворотке крови у больных ХТ детей может быть обусловлен и экстра-тонзиллярными факторами (Л.А. Дюговская, 1975). При ХТ у детей преобладающими являются реакции типа ГЗТ, которые проявляются в более высоком, чем у здоровых доноров, показателя фактора торможения миграции лейкоцитов (LIF) в миндалинах и ротоглоточном секрете и сыворотке крови, а также в повышенной активности лимфоцитов–киллеров миндалин и клеток

крови в отношении клеток, сенсibilизированных антигеном стрептококка.

Полученные данные по вектору изменений совпадают с результатами исследований других авторов, изучавших отдельные факторы иммунитета и аллергии за последние десятилетия (Э.В. Гюллинг, О.Ф. Мельников, 1974; В.И. Милько и соавт., 1976; О.Ф. Мельников, 1981; К.А. Хоцяновский, 2002; Д.И. Заболотный и соавт., 2008; Takenaka et al., 1987).

Полученные нами данные впервые позволяют говорить о возможности проведения дифференциальной иммунодиагностики между ГНМ и ХТ по определению уровня реактивных антител и составных компонентов ГЗТ в периферической крови, но, прежде всего на основе современных неинвазивных методов исследования факторов иммунитета (защитные белки, цитокины) и аллергии (LIF) ротоглоточного секрета.

1. Вершигора А.Е. Роль небных миндалин в реакциях иммунитета и аллергии // Журн. ушных, носовых и горловых болезней. – 1971. – №2. – С. 1-10.
2. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
3. Гюллинг Э.В., Мельников О.Ф. О повышенной чувствительности клеток небных миндалин больных хроническим тонзиллитом к стрептококку и стафилококку // Вестн. оториноларингологии. – 1974. – №4. – С. 46-48.
4. Дюговская Л.А. Образование реактивов в условиях нормы и при хроническом тонзиллите: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Киев, 1975. – 21 с.
5. Заболотный Д.И., Лайко А.А., Мельников О.Ф., Косаковский А.Л. Молочек Ю.А. и др. Гипертрофия лимфаденоидной ткани глотки. – Київ-Логос. – 2008. – 175 с.
6. Мельников О.Ф. Иммунологические аспекты генеза хронического тонзиллита и регуляции функциональной активности небных миндалин: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Киев, 1981. – 32 с.
7. Мельников О.Ф., Заяц Т.А. Сравнительное изучение радиоизотопного и спектрофотометрического метода исследования цитолиза клеток // Лаб. диагностика. – 1999. – № 5. – С. 43-45.
8. Милько В.И., Мельников О.Ф., Лазар А.Ф. Цитолитическая активность лимфоцитов небных миндалин при хроническом тонзиллите // Журн. ушных, носовых и горловых болезней. – 1976. – №3. – С. 20-23.
9. Хоцяновський К.А. Тактика лікування дітей з гіпертрофією піднебінних мигдаликів: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Київ, 2002. – 17 с.
10. Преображенский Б.С. Попова Г.Н. Ангина, хронический тонзиллит и сопряженные с ними общие заболевания. – М.: Медицина, 1979. – 456 с.
11. Хмельницкая Н.М. Морфологические изменения гипертрофированных небных миндалин при различных формах консервативного лечения // Арх. патологии. – 1990. – № 5. – С. 36-40.
12. Blank I. Реакция торможения миграции макрофагов // Иммунологические методы / Под. ред. Х. Фриммеля. – М.: Мир, 1979. – С. 153-160.
13. Ramirez A., Peidrola D., Martinez M. Beta-hemolytic streptococci in tonsil hypertrophy // Enferm. Infect. Microbiol. Clin. – 1997. – b.15, №6. – P. 315-318.
14. Takenaka H., Kusumi T., Mizukoshi O. In vitro synthesis of IgE-antibody by human tonsil mononuclear cells // Acta Otolaryngol. – 1987. – Suppl. 454. (International Symposium on Tonsils). – P. 133-138.

Поступила в редакцию 16.07.09.

© О.Ф. Мельников, А.А. Лайко, А.Ю. Бредун, 2009

**ІМУНОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА  
ЛОКАЛЬНОГО ТА СИСТЕМОГО ІМУНІТЕТУ  
ПІДНЕБІННИХ МИГДАЛИКІВ ПРИ ЇХ  
ГІПЕРТРОФІЇ ТА ХРОНІЧНОМУ ТОНЗИЛІТІ  
У ДІТЕЙ**

**ПОВІДОМЛЕННЯ 3.**

**ФАКТОРИ АЛЕРГІЇ В РОТОГЛОТКОВОМУ  
СЕКРЕТІ, КЛІТИНАХ ПІДНЕБІННИХ  
МИГДАЛИКІВ І СИРОВАТЦІ КРОВІ ПРИ  
ХРОНІЧНОМУ ТОНЗИЛІТІ І ГІПЕРТРОФІЇ  
ПІДНЕБІННИХ МИГДАЛИКІВ У ДІТЕЙ**

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

*Резюме*

Досліджено вміст реакінових антитіл (IgE, IgG4) в лізатах з клітин мигдаликів та сироватки крові у дітей з гіпертрофією піднебінних мигдаликів, при хронічному тонзиліті та у практично здорових. Визначено вміст фактору гальмування міграції лейкоцитів (LIF) у мигдаликах, ротоглотковому секреті та сироватці крові, а також активність імунних кілерів у крові та в мигдаликах по відношенню до мішеней, сенсibilізованих стрептококковим антигеном. Виявлено відмінності у вмісті «факторів алергії» у дітей з гіпертрофією піднебінних мигдаликів та при хронічному тонзиліті. Обговорюються питання диференціальної імунодіагностики зазначених хворобами.

**IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTIC OF  
LOCAL AND SYSTEM IMMUNITY UNDER  
PALATINE TONSILS BY ITS HYPERTROPHY  
AND CHRONIC INFLAMMATION IN CHILDREN  
ANNOUNCEMENT 3.**

**ALLERGY FACTORS IN OROPHARYNX  
SECRETION, CELLS OF PALATINE TONSILS,  
AND BLOOD SERUM AT CHRONIC  
TONSILLITIS AND HYPERTROPHY OF  
PALATINE TONSILS IN CHILDREN**

*Melnikov O.F., Layko A.A., Bredun O.Yu. (Kiev)*

*Summary*

The contents of reacting antibodies (IgE, IgG4) in lysates of мигдаликів cells and in blood serum of children with hypertrophy of palatine tonsils, at chronic tonsillitis and in practically healthy ones were evaluated. It were estimated the content of the factor of inhibition of leucocytes' migration (LIF) in tonsils, oropharynx secretion and blood serum, as well as activity of immune killers in blood and in tonsils to targets that were sensibilized by streptococci antigen. It were noted the differences in "allergic factors" content in children with hypertrophy of palatine tonsils and at chronic tonsillitis. The questions of differential immunodiagnostics of the noted diseases are discussed.