

*О.Ф. МЕЛЬНИКОВ, Д.И. ЗАБОЛОТНЫЙ, О.И. ТЫНИТОВСКАЯ,
О.Г. РЫЛЬСКАЯ, А.Ю. БРЕДУН, В.И. ЛЕВАНДОВСКАЯ*

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОМОДУЛЯЦИИ МУКОЗАЛЬНОЙ ВАКЦИНОЙ СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ И ПОСЛЕ ТОНЗИЛЛЭКТОМИИ

*ДУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко НАМН Украины»
(дир. – акад. НАМН Украины, проф. Д.И. Заболотный)*

За последние 20 лет убедительно показано, что иммунопрофилактика с применением препаратов из бактерий и грибов, обитающих на слизистой оболочке, является эффективным методом снижения частоты развития инфекционно-воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей [3, 15]. Это направление получило определение как «мукозальная вакцинация» [11, 12], а по другим авторам – как «бактериальная иммуномодуляция» [7, 14, 15]. Все мукозальные вакцины (МВ) созданы на основе структурных единиц от различных по составу и количеству (от 4 до 19) условно-патогенных микроорганизмов верхних дыхательных путей и применяются либо локально в ротовой части глотки, либо системно перорально. Имеются отдельные сообщения об усилении системного гуморального и клеточного иммунитета при профилактическом применении МВ [3], однако данных о характере иммунологических флюктуаций в ротовой части глотки и носовой полости при использовании МВ недостаточно для формирования представлений о спектре и векторности изменений параметров местного иммунитета в области верхних дыхательных путей. В связи с изложенным нами проведены исследования по определению уровня иммуноглобулинов и цитокинов, характеристике клеточного состава в ротоглоточном секрете у больных хроническим тонзиллитом и у пациентов после тонзиллэктомии, которые в состоянии клинической ремиссии проходили иммунопрофилактику с использованием мукозаль-

ной вакцины системного действия типа ОМ-85 («Бронховаксом»).

Материал и методы

Исследования проведены у 53 пациентов различных групп в возрасте от 14 до 35 лет. 13 человек составили контрольную группу (КГ) практически здоровых доноров без патологии верхних дыхательных путей. 21 обследуемый представляли группу больных хроническим тонзиллитом (ХТ), которые на момент исследования были в стадии клинической ремиссии, а 19 отнесены к группе тонзиллэктомированных (1-5 лет после операции) и также на момент начала исследований не предъявляли жалоб на состояние здоровья.

Объектом исследования служил нестимулированный ротоглоточный секрет, который собирался до и после мукозальной вакцинации, а также обрабатывался для иммуноферментных и цитологических исследований в соответствии с рекомендациями Д.И. Заболотного, О.Ф. Мельникова и соавторов [5], А.В. Демьянова и соавторы [2] (2003). Препарат ОМ-85 применялся согласно инструкции на протяжении 3 мес и через 10 дней после окончания последнего приема собирался РГС. Хранение жидкой фазы ротоглоточного секрета проводилось в условиях морозильной камеры при -20⁰С в течение 2 мес. Окрашивание мазков проводили по Романовскому [8], при этом в световом микроскопе определялись эпителиальные клетки, нейтрофильные лейкоциты, лимфоциты и другие клетки, резуль-

тат выражался в виде относительного содержания (%) отдельных типов клеток на 200 клеток.

В жидкой фазе ротоглоточного секрета методом ИФА (ридер Lab line, Австрия) согласно рекомендациям Д.И. Заболотного, О.Ф. Мельникова и соавторов [5], определялось содержание секреторного и мономерного иммуноглобулина класса А, фактора некроза опухолей (ФНО- α), γ -интерферона (все реактивы Хема-Медика и Цитокин, РФ). Кроме того, в жидкой фазе РГС исследовался уровень иммунных комплексов с использованием метода осаждения белков полиэтиленгликолем [6, 13].

Результаты статистически обработаны с применением непараметрического критерия «U» (Вилкоксона-Манна-Уитни), согласно описаниям Е.В. Гублера [1].

Результаты исследований и их обсуждение

Определение клеточного состава РГС показало (т. 1), что как в группе тонзиллэктомированных пациентов, так и у больных ХТ имело место достоверное ($p < 0,02$) снижение числа эпителиальных клеток и повышение количества воспалительных клеток (нейтрофилы и эозинофилы), а у лиц после ТЭ – и числа лимфоцитов, что рассматривается как прямое доказательство наличия вяло текущего воспаления в слизистой оболочке ротовой части глотки [4, 10]. Применение мукозальной вакцины системного действия типа ОМ-85 в течение 3 мес нормализовало клеточный состав во всех группах и приблизило содержания клеток всех исследованных гистогенетических групп к показателям у здоровых доноров.

Таблица 1

Клеточный состав РГС пациентов различных групп до и после мукозальной вакцинации

Группы	Относительное содержание клеток, %			
	эпителиоциты	нейтрофилы	лимфоциты	эозинофилы
КГ	86,2 (63-100)	11,6 (0-29)	2,2 (0-8)	0,1 (0-2)
ТЭ до	59,4*(11-90)	47,5**(9-84)	8,0 *(5-15)	1,0 *(0-5)
ТЭ после	85,2 (72-96)	12,2 (4-18)	2,4 (1-12)	0,2 (0-2)
ХТ до	76,2 (20-90)	22,6* (4-70)	1,6 (0-7)	0,6* (0-3)
ХТ после	85,6 (70-96)	11,2 (4-16)	2,6 (1-10)	0,1 (0-1)

Примечание: в скобках указаны пределы колебаний значений в группе (миним.-максим.); * - $p < 0,05$, ** $p < 0,02$ по отношению к группе КГ.

Применение мукозальной вакцины сопровождалось (рис. 1) снижением уровня иммунных комплексов в РГС как у больных ХТ, так и у тонзиллэктомированных ($p < 0,02$).

Что касается влияния препарата ОМ-85 на содержание главного фактора гуморального иммунитета слизистой оболочки организма – секреторного IgA, то и в этом компоненте исследований выявлена положительная достоверная динамика восстановления уровня секреторной и снижение концентрации малоэффективной мономерной формы данного иммуноглобулина (табл. 2).

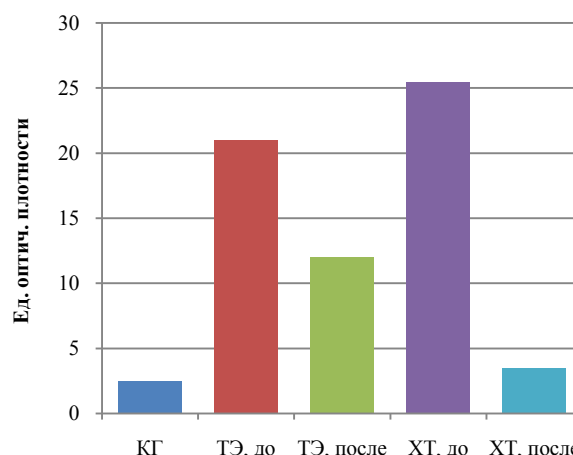


Рис. 1. Содержание ИК в РГС различных групп до и после применения МВ.

Концентрация секреторной и мономерной форм IgA в РГС у больных ХТ и после ТЭ при использовании мукозальной вакцины

Группы	Концентрация Ig, г/л	
	sIgA	IgA
КГ	0,65 (0,5-1,2)	0,15 (0-0,25)
ТЭ до	0,3* (0,12-0,45)	0,3* (0,2-0,45)
ТЭ после	0,48 (0,32-0,55)	0,2 (0-0,4)
ХТ до	0,35* (0,2-0,6)	0,4* (0,2-0,6)
ХТ после	0,5 (0,2-0,9)	0,2 (0,1-0,3)

Примечание: * – достоверно по отношению к группе КГ ($p < 0,05$)

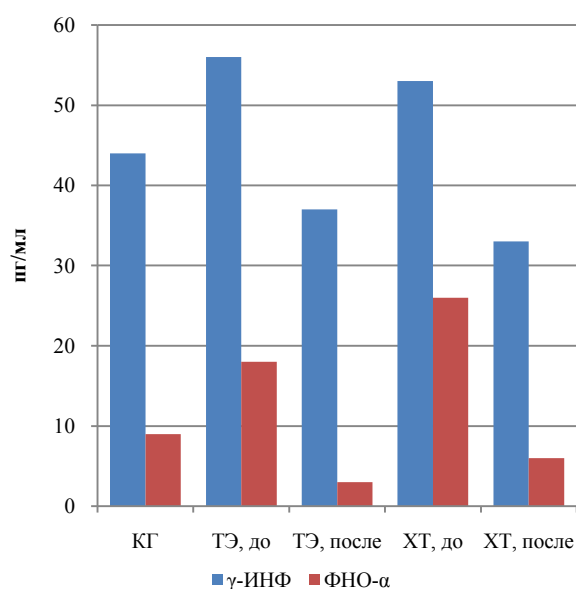


Рис. 2. Содержание в РГС у больных ХТ и пациентов после тонзиллэктомии провоспалительного цитокина ФНО-α и γ-интерферона до и после применения мукозальной вакцины.

Определение содержания в РГС у обследованных групп противовирусного и регуляторного цитокина – γ-интерферона не выявило существенной динамики в его кон-

центрации как до, так и после применения мукозальной вакцины (рис. 2), тогда, как уровень провоспалительного цитокина ФНО-α достоверно ($p < 0,02$) снижался после использования МВ как у больных хроническим тонзиллитом, так и после тонзиллэктомии, что, наряду с изменением клеточного состава РГС, свидетельствует о выраженном противовоспалительном действии мукозальной вакцинации [3, 16].

Выводы

1. Применение мукозальной вакцины типа ОМ-85 на протяжении 3 мес «нормализует» клеточный состав ротоглоточного секрета как у больных ХТ так и у пациентов, перенесших тонзиллэктомию.
2. Мукозальная вакцинация препаратом системного типа сопровождается выраженным противовоспалительным эффектом как на клеточном, так и гуморальном уровнях.
3. Препарат ОМ-85 способствует усилению защитных свойств РГС как у больных ХТ, так и у тонзиллэктомированных пациентов.

Литература

1. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 242 с.
2. 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.
3. Дранник Г.Н., Курченко А.И., Дранник А.Г. Иммунная система слизистых, физиологическая микрофлора и антибиотики. – Киев: Полиграф Плюс. – 2009. – 140 с.
4. Дюмин О.В., Драгомирецкий В.Д., Лебедев К.А., Понякина И.Д. Оценка местного и системного иммунитета в диагностике и лечении профессиональных заболеваний верхних дыхательных путей // Метод. рекомендации. – Одесса, 1990. – 15 с.
5. Заболотный Д.И., Мельников О.Ф., Тимченко С.В., Заболотна Д.Д. Методичні рекомендації. – Дослідження ротоглоткового секрету у хворих на хронічні запальні та алергічні захворювання верхніх дихальних шляхів. – Київ, 2008. – 27 с.
6. Кайдашев И.П. Методы клинических та экспериментальных исследований в медицине. – Полтава: Полимет, 2003. – 320 с.
7. Ковальчук Л.В., Банковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 640 с.
8. Кост Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. – М.: Медицина. – 433 с.
9. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунная недостаточность. – М.: Медицинская книга, 2003. – 403 с.
10. Мельников О.Ф., Тимченко С.В., Заболотная Д.Д., Смагина Т.В., Негипа Л.С., Бредун А.Ю., Левандовская В.И., Шматко В.И., Калиновская Л.П. Соотношение в показателях местного иммунитета при воспалительных процессах в верхних дыхательных путях // Ринология. – 2002. – № 4. – С. 11-15.
11. Мельников О.Ф., Заболотна Д.Д. Імунологічні показники ротоглоткового секрету у хворих на хронічний тонзиліт // Ринологія. – 2009. – №2. – С. 22-24.
12. Мельников О.Ф., Пелешенко Н.А., Заболотная Д.Д., Рыльская О.Г. Иммуномодуляция фитопрепаратами в терапии воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей. – Киев, 2013. – 109 с.
13. Насонов Е.Л. Методические аспекты определения циркулирующих иммунных комплексов с использованием полиэтиленгликоля // Тер. архив. – 1987. – № 4. – С. 38-45.
14. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение // Иммунология. – 2003. – № 4, Т. 24. – С. 196-203.
15. Иммунотерапия: руководство / Под ред. акад. РАН Р.М. Хаитова, проф. Р.И. Атауллаханова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 672 с.
16. Foreman J.C. Клетки, участвующие в воспалении // Руководство по иммунофармакологии / Под ред. М. Dale, J. Foreman. – М.: Медицина / Пер. англ.), 1998. – 332 с. – С.151-192.

References

1. Gubler EV. Mathematical methods of analysis and recognition of pathological processes. Leningrad: Meditsina; 1978. 242 p. Russian.
2. Dem'ianov AV, Kotov A, Simbirtsev AG. Diagnostic value of cytokine levels in clinical practice. Tsitokiny i vospalenie. 2003;(3):20-8. Russian.
3. Drannik GN, Kurchenko AI, Drannik AG. Mucosal immune system, the physiological microflora and antibiotics. Kiev: Poligraf Plus; 2009. 140 p. Russian.
4. Diumin OV, Dragomiretskii VD, Lebedev KA, Poniakina ID. Evaluation of local and systemic immunity in the diagnosis and treatment of occupational respiratory diseases. Odessa; 1990. 15 p. Russian.
5. Zabolotnyj DI, Mel'nykov OF, Tymchenko SV, Zabolotna DD. Analysis of pharyngeal secretions in patients with chronic inflammatory and allergic diseases of the upper respiratory tract. Kyi'v; 2008. 27 p. Ukrainian.
6. Kajdashev IP. Methods for clinical and experimental research in medicine. Potava: Polymet; 2003. 320 p. Ukrainian.
7. Koval'chuk LV, Bankovskaia LV, Meshkova RIa. Clinical Immunology and Allergology with Basic Immunology. Moscow: GEOTAR-Media, 2011. 640 p. Russian.
8. Kost EA. Handbook of clinical laboratory tests. Moscow: Meditsina; 1975. 360 p. Russian.
9. Lebedev KA, Poniakina ID. Immune deficiency. Moscow: Meditsinskaia kniga; 2003. 403 p. Russian.
10. Mel'nikov OF, Timchenko SV, Zabolotnaia DD, Smagina TV, Negipa LS, Bredun AIu, Levandovskaia VI, Shmatko VI, Kalinovskaia LP. Local immunity in inflammatory processes in the upper respiratory tract. Rinologija. 2002;(4):11-5. Russian.
11. Mel'nykov OF, Zabolotna DD. Immunological indicators of the pharyngeal secretions in patients with chronic tonsillitis. Rynologija. – 2009. – №2. – S. 22-24. Ukrainian.
12. Mel'nikov OF, Peleshenko NA, Zabolotnaia DD, Ryl'skaia OG. Immunomodulation by herbal remedies in the treatment of inflammatory diseases of the upper respiratory tract. Kiev; 2013. 109 p. Russian.

13. Nasonov EL. Methodological aspects of the definition of circulating immune complexes using polyethylene glycol. *Ter arkhiv.* 1987;(4):38-45. Russian.
14. Khaitov RM, Pinegin BV. Immunomodulators: mechanism of action and clinical application. *Immunologiya.* 2003;24(4):196-203. Russian.
15. Khaitov RM, Ataulkhanova RI, editors. *Immunotherapy: manual.* Moscow: GEOTAR-Media; 2012. 672 p. Russian.
16. Foreman JC. Cells involved in inflammation. In: *Manual of immunopharmacology.* Dale M, Foreman J, editors. Moscow: Meditsina; 1998. P.151-92. Russian.

Поступила в редакцию 03.03.15.

© О.Ф. Мельников, Д.И. Заболотный, О.И. Тынитовская, О.Г. Рылская, А.Ю. Бредун, В.И. Левандовская, 2015

ІМУНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЛОКАЛЬНОЇ ІМУНОМОДУЛЯЦІЇ МУКОЗАЛЬНОЮ ВАКЦИНОЮ СИСТЕМНОЇ ДІЇ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ТОНЗИЛІТ ТА ПІСЛЯ ТОНЗИЛЕКТОМІЇ

Мельников О.Ф., Заболотный Д.И., Тынитовская О.И., Рылская О.Г., Бредун А.Ю., Левандовская В.И. (Київ)

Резюме

Досліджувався стан локального імунітету до та після застосування мукозальної вакцини OM-85 за вмістом у ротоглотковому секреті (РГС) секреторної та мономерної форм імуноглобуліна А, гамма-інтерферона, фактора некрозу пухлин, рівня імунних комплексів та характером клітковинного складу у хворих на хронічний тонзиліт (стадія ремісії) у пацієнтів після тонзилектомії (від 1 до 5 років після) та у практично здорових донорів. Застосування мукозальної вакцини типу OM-58 протягом 3 міс «нормалізує» клітинний склад ротоглоткового секрету як у хворих на ХТ, так і після тонзилектомії та супроводжується протизапальним ефектом як на клітковинному, так і на гуморальному рівнях, сприяє посиленню захисних властивостей РСГ як у хворих на ХТ, так і у тонзилектомованих пацієнтів.

IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF LOCAL IMMUNOMODULATION BY MUCOSAL VACCINE OF SYSTEMIC USE IN PATIENTS WITH CHRONIC TONSILLITIS & AFTER TONSILLECTOMY

Melnikov O.F., Zabolotny D.I., Tynitovskaja O.I., Rylska O.G., Bredun A.Ju., Levandovskaja V.I. (Kyiv)

*State institution «O.S. Kolomiychenko Institute of Otolaryngology
of National Academy of Medical Sciences of Ukraine»
e-mail: amtc@kndio.kiev.ua*

Abstract

State of the problem. The decline of parameters of local immunity takes place in patients with chronic tonsillitis (CT) and after tonsillectomy (TE). These violations it is assumed to modulate by means of mucosal vaccines application. In connection with the stated, we conducted the research on determination of level of immunoglobulins and cytokines, description of cellular composition in a oropharyngeal secret for patients with chronic tonsillitis and after tonsillectomy. In a state of clinical remission they passed immunoprophylaxis with the use of mucosal vaccine of systemic action of OM-85 type (Broncho-vaxom).

Materials and methods. 53 patients were included in the study, aged from 14 to 35 years. 13 persons from a control group (CG) practically healthy donors without pathology from the side of upper respiratory tract. 21 men presented the group of patients with chronic tonsillitis, that in the moment of research were in the stage of remission. 19 patients after tonsillectomy made a group that in the moment of beginning of researches did not produce complaints about the state of health.

Not stimulated oropharyngeal secret served as a research object, that was collected before and after a mucosal vaccination.

Results. A mucosal vaccine application type OM-85 during 3 months «normalizes» cellular composition of oropharyngeal secret (OPS) both for the patients with CT so after TE. This effect is accompanied by the expressed antiinflammatory effect both on cellular and humoral levels (decline of TNF- α , a number of neutrophils) and assists strengthening of protective properties of OPS (increase the level of sIgA) both for the patients with chronic tonsillitis and for patients after tonsillectomy.

Conclusions. Application of mucosal vaccine type OM-85 (Broncho-vaxom) is the effective method of immunerehabilitation for the patients with CT and for patients after TE.

Keywords: local immunity, patients with chronic tonsillitis & after tonsillectomy, mucosal vaccine.