



ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА И УРОВНЕЙ IL-4 И IL-6 У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ

Смиян А.И.¹, Мозговая Ю.А.¹, Мощич А.П.²

¹ Медицинский институт Сумского государственного университета, Сумы, Украина

² Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П.Л. Шупика, Киев, Украина

Получена 01/30/2015; принята к печати 08/22/2015

РЕФЕРАТ

Проблема хронического тонзиллита остается актуальной для педиатров. Во-первых, это обусловлено недостаточной зрелостью иммунной системы в детском возрасте, особенно лимфатической, а во-вторых вероятностью развития тонзилогенных осложнений и хронических заболеваний других органов и систем.

В защите миндалин, полости рта, носоглотки от проникновения патогенных микроорганизмов большое значение имеет состояние колонизационной резистентности, которая значительно нарушается у больных острым или хроническим тонзиллитом. Решающими в реализации микробных факторов при хроническом тонзиллите являются изменения общей и местной реактивности организма. При хронических воспалительных заболеваниях дыхательных путей цитокины привлекаются к инфекционно-воспалительному процессу на уровне специфического иммунного ответа и неспецифического эффекторного звена; они в значительной степени определяют направление, тяжесть и исход патологического процесса.

Целью нашего исследования было изучение состояния иммунной системы и уровень IL-4 и IL-6 у детей с хроническим тонзиллитом.

В статье изложены основные особенности иммунного статуса детей с хроническим тонзиллитом. Проанализированы уровни лимфоцитов, Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-супрессоров и иммунорегуляторного индекса в сыворотке крови. Состояние иммунной системы детей оценивалось путем изучения уровней иммунологических показателей: Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-супрессоров, В-лимфоцитов, фагоцитарного индекса, фагоцитарного числа, иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) и профиля цитокинов (провоспалительного IL-6 и противовоспалительного IL-4). Определение Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций проводили методом иммунофлуоресценции с моноклональными антителами. Определение содержания цитокинов (IL-4, IL-6) в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ELISA). Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли с помощью светового микроскопа по способности нейтрофилов поглощать латекс-частицы.

Установлено, что у детей с хроническим тонзиллитом фагоцитарные Т-клеточные звенья склонны к угнетению, в то время как CD_8^+ – к повышению по сравнению с показателями практически здоровых детей. У детей с хроническим тонзиллитом при анализе динамики про- и противовоспалительных цитокинов было установлено повышение концентрации IL-4 как в периоде обострения, так и после проведения стандартной терапии, а уровень IL-6 достоверно повышался в первые дни госпитализации и снижался после проведения стандартного лечения, но так и не достигая уровней, зарегистрированных у практически здоровых детей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дети, хронический тонзиллит, небные миндалины, иммунная система, цитокины.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проблема хронического тонзиллита остается актуальной в практике педиатров. Во-первых, это обусловлено недостаточной зрелостью иммунной системы в детском возрасте, особенно лимфатической, а во-вторых вероятностью развития тонзилогенных осложнений и хронических заболеваний других органов и систем [Буряк В и соавт., 2011; Крючко Т и соавт., 2012].

В защите миндалин, полости рта, носоглотки от проникновения патогенных микроорганизмов

большое значение имеет состояние колонизационной резистентности, которая значительно нарушается у больных острым или хроническим тонзиллитом. Миндалины с современных позиций рассматриваются как иммунокомпетентный орган, отвечающий за формирование защитного барьера слизистой оболочки дыхательных путей и адекватность иммунного ответа на уровне макроорганизма [Нагоев Б, Нагоева М, 2009; Шляхова Н, 2011].

Решающими в реализации микробных факторов при хроническом тонзиллите являются изменения общей и местной реактивности организма [Шляхова Н, 2011].

В наши дни важным является изучение вопроса о роли медиаторов врожденного и адаптивного им-

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE:

Sumy State University
2 Rimsky-Korsakov St., Sumy 40007, Ukraine
E-mail: smiyana@ukr.net
Phone: +30 050 6316005

мунитета, в частности, интерлейкинов в регуляции иммунной системы слизистых оболочек. При хронических воспалительных заболеваниях дыхательных путей цитокины привлекаются к инфекционно-воспалительному процессу на уровне специфического иммунного ответа и неспецифического эффекторного звена; они в значительной степени определяют направление, тяжесть и исход патологического процесса [Кайдашев И, 2012; Efthimiadis I et al., 2011; He L et al., 2013].

Целью нашего исследования было изучение состояния иммунной системы и уровень IL-4 и IL-6 у детей с хроническим тонзиллитом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было проведено изучение состояния клеточного иммунитета у 63 детей в возрасте от 13 до 17 лет, больных хроническим тонзиллитом на 1-2-й день госпитализации и у 33 детей после проведения стандартной терапии (на 12-14 сутки). Для изучения состояния системы про- и противовоспалительных цитокинов была определена концентрация IL-6 и IL-4 у 42 детей, больных хроническим тонзиллитом при госпитализации и у 22 – после проведения стандартного лечения (12-14-й день). Группу контроля составили 20 практически здоровых детей соответствующего возраста и пола.

Состояние иммунной системы детей оценивалось путем изучения уровней иммунологических показателей, включая Т-лимфоциты, Т-хелперы, Т-супрессоры, В-лимфоциты, фагоцитарный индекс, фагоцитарное число, иммуноглобулины Ig-G, А, М и профиль цитокинов (провоспалительный IL-6 и противовоспалительный IL-4). Определение Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций проводили методом иммунофлуоресценции с моноклональными антителами. В исследовании были использованы следующие моноклональные антитела к маркеру общей популяции: Т-лимфоциты – CD₃⁺, Т-хелперы – CD₄⁺, Т-супрессоры – CD₈⁺, В-лимфоциты – CD₂₂⁺. Определение содержания цитокинов (IL-4, IL-6) в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ELISA). Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли с помощью светового микроскопа по способности нейтрофилов поглощать латекс-частицы.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью стандартной статистической компьютерной системы Microsoft Excel (2007), адаптированной для медико-биологических исследований. Для статистического анализа данных рассчитывали среднее арифметическое (M), его стандартную ошибку (m), стандартное

отклонение (δ), а также достоверность различий (p). Оценка разницы между средними значениями независимых выборок была проведена параметрическим методом для определения достоверности статистической разницы в обеих группах исследования. Использовался метод Стьюдента-Фишера, при котором и различия были признаны достоверными при значении p<0,05.

Исследование было одобрено Институциональным комитетом по биоэтике и соответствует принципам, обозначенным в Хельсинкской декларации (Br. Med. J. 1964; p.177).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенного исследования установлены нарушения иммунного статуса у детей с хроническим тонзиллитом в отличие от практически здоровых детей даже в первые дни заболевания.

Так, фагоцитарное звено иммунитета при госпитализации характеризовалось снижением фагоцитарного индекса до 48,73±0,90% и фагоцитарного числа до 7,30±0,21% по сравнению с группой контроля, соответственно (55,72±1,39) и (9,48±0,27) (p<0,001). Наряду с этим, изменения клеточного иммунитета проявлялись снижением CD₃⁺ до 57,80±1,58%, CD₄⁺ до 30,61±0,26% и иммунорегуляторного индекса до 1,60±0,03% по сравнению с данными группы контроля (p<0,001). В свою очередь, количество CD₈⁺ повышалось до 29,50±0,87%, что достоверно больше, чем у практически здоровых лиц (p<0,05) (табл.).

В периоде обострения хронического тонзиллита, когда клинические проявления были менее выраженными фагоцитарный индекс достоверно повышался до 52,06±0,96% (p<0,05), тогда как уровень фагоцитарного числа имел тенденцию к росту, однако оставался ниже, чем у детей без патологии (p<0,001).

Анализ клеточного иммунитета после стандартной терапии у детей с хроническим тонзиллитом показал достоверное повышение количества CD₃⁺ – до 63,42±1,10 г/л (p<0,01) и почти достигал уровня показателей практически здоровых детей (p>0,05). Одновременно, содержание CD₄⁺ и иммунорегуляторного индекса после лечения почти не менялось (p>0,05) и отличалось от данных контрольной группы (p<0,001). Количество CD₈⁺ имело тенденцию к снижению – до 27,21±0,95 г/л и приближалось к нормальным показателям (p>0,05).

Установлено, что в период обострения хронического тонзиллита у пациентов обеих групп имело место повышение как провоспалительного интерлейкина (IL-6), так и противовоспалитель-

ного (IL-4) по сравнению с показателями практически здоровых детей.

Так, в день госпитализации у детей с хроническим тонзиллитом было установлено достоверное

повышение IL-4 до $85,73 \pm 3,24$ пг/мл, что в 12 раз выше, чем у практически здоровых детей ($p < 0,001$). В периоде реконвалесценции уровень этого противовоспалительного цитокина имел тенденцию к снижению до $81,32 \pm 3,85$ пг/мл ($p > 0,05$), однако по сравнению с контрольной группой оставался высоким ($p < 0,001$).

Анализ уровня IL-6 у респондентов с хроническим тонзиллитом показал достоверное повышение его уровня в первые дни госпитализации до $32,00 \pm 1,48$ пг/мл ($p < 0,001$). После проведения стандартного лечения содержание IL-6 снижалось до $16,07 \pm 1,37$ пг/мл ($p < 0,001$), но не достигало данных, наблюдаемых у практически здоровых детей ($p < 0,001$).

Итак, исследование состояния иммунной системы у детей с хроническим тонзиллитом, показало угнетение фагоцитарного и Т-клеточного звеньев иммунитета, что проявлялось снижением фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа, CD_3^+ , CD_4^+ лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса ($p < 0,001$) и повышением CD_8^+ ($p < 0,01$) по сравнению с показателями практически здоровых детей. При анализе изменений уровня про- и противовоспалительных цитокинов у детей с хроническим тонзиллитом наблюдалось повышение концентрации IL-4 как в периоде обострения, так и после проведения стандартной терапии. Полученные данные могут свидетельствовать о высоком уровне активации противовоспалительных реакций иммунной защиты и напряженном иммунном ответе детского организма на фоне хронического тонзиллита. Повышение провоспалительного IL-6 в первые дни обострения хронического тонзиллита было обусловлено активацией, как местных, так и системных иммунорегуляторных механизмов, направленных на развитие воспалительного процесса и иммунной реакции на воспаление. Следует подчеркнуть, что в периоде реконвалесценции наблюдалась тенденция к снижению IL-4 ($p > 0,05$) и достоверное уменьшение концентрации IL-6 ($p < 0,001$), однако данные показатели не достигали уровней, которые были зарегистрированы у практически здоровых детей.

Таким образом, полученные в результате исследований данные позволят обоснованно проводить диагностику иммунологических нарушений, определять рациональные пути лечения детей с хроническим тонзиллитом, при этом учитывая особенности динамики показателей клеточного звена иммунитета и уровней IL-4 и IL-6. Все эти поэтапные шаги необходимы для предотвращения декомпенсации хронического тонзиллита и улучшения качества жизни детей с этой патологией.

ТАБЛИЦА.
Динамика показателей клеточного звена иммунитета у детей с хроническим тонзиллитом для I и II групп (M±m)

Иммунологические показатели	До лечения (n = 63)	После лечения (n=33)	Практически здоровые дети (n=20)
	1	2	3
Лейкоциты, $10^9/л$	$6,51 \pm 0,26$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$	$6,15 \pm 0,30$ $p_{2-3} > 0,05$	$6,09 \pm 0,29$
Лимфоциты	% $41,80 \pm 1,19$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$	$40,81 \pm 1,19$ $p_{2-3} > 0,05$	$39,00 \pm 1,60$
	10^9 $2,70 \pm 0,10$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$	$2,51 \pm 0,08$ $p_{2-3} > 0,05$	$2,38 \pm 0,07$
CD3+	% $57,80 \pm 1,58$ $p_{1-2} < 0,01$ $p_{1-3} < 0,001$	$63,42 \pm 1,10$ $p_{2-3} > 0,05$	$65,32 \pm 1,14$
	10^9 $1,56 \pm 0,05$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$	$1,59 \pm 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$	$1,56 \pm 0,05$
CD4+	% $30,61 \pm 0,26$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} < 0,001$	$31,30 \pm 0,40$ $p_{2-3} < 0,001$	$39,12 \pm 0,71$
	10^9 $0,82 \pm 0,04$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$	$0,79 \pm 0,04$ $p_{2-3} < 0,05$	$0,93 \pm 0,05$
CD8+	% $29,50 \pm 0,87$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$	$27,21 \pm 0,95$ $p_{2-3} > 0,05$	$26,60 \pm 1,14$
	10^9 $0,80 \pm 0,10$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$	$0,68 \pm 0,09$ $p_{2-3} > 0,05$	$0,63 \pm 0,06$
CD22+	% $21,14 \pm 0,37$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$	$21,00 \pm 0,53$ $p_{2-3} > 0,05$	$21,80 \pm 0,88$
	10^9 $0,57 \pm 0,04$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$	$0,53 \pm 0,04$ $p_{2-3} > 0,05$	$0,51 \pm 0,04$
Иммуно-регуляторный индекс, %	$1,60 \pm 0,03$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} < 0,001$	$1,62 \pm 0,04$ $p_{2-3} < 0,001$	$2,20 \pm 0,05$

ПРИМЕЧАНИЕ: p – достоверность расхождений: p_{1-2} – между показателями до и после лечения; p_{1-3} и p_{2-3} – между показателями больных детей до и после лечения и данными группы контроля,

ЛИТЕРАТУРА

1. Буряк ВН, Пошехонова ЮВ, Шабан НИ. Оптимизация тактики ведения детей, страдающих хроническим тонзиллитом. Современная педиатрия. 2011; 2(36): 48-51.
 2. Кайдашев ИП. Цитокиновый сигнальный модуль при воспалительном ответе. Здоровье Украины. 2012; 3: 26-32.
 3. Крючко ТА, Ткаченко ОЯ, Шпехт ТВ. Проблема тонзиллита в педиатрической практике. Совр. педиатрия. 2012; 2(42): 41-46.
 4. Нагоев БС, Нагоева МХ. Состояние Т-клеточного иммунитета и цитокинового профиля у больных бактериальной ангиной. Инфекционные болезни. 2009; 7(2): 50-54.
 5. Шляхова НВ. Возрастные особенности иммунологических показателей детей и подростков. Совр. педиатрия. 2011; 4(38): 122-124.
 6. Efthimiadis I, Skendros P, Sarantopoulos A, Boura P. CD4+/CD25+ T-Lymphocytes and Th1/Th2 regulation in dilated cardiomyopathy. Hippokratia. 2011 Oct; 15(4): 335-342.
 7. He L, Peng Y, Liu H., et al. Activation of the interleukin-4/signal transducer and activator of transcription 6 signaling pathway and homeodomain-interacting protein kinase 2 production by tonsillar mononuclear cells in IgA nephropathy. Am J Nephrol. 2013; 38(4): 321-332.
-
-