

Изучение местного иммунитета при хроническом тонзиллите приобретает все большую актуальность. Рядом авторов [1,3] доказаны достоверные изменения в показателях местного иммунитета и отсутствие достоверных изменений в показателях общего иммунитета при хроническом тонзиллите. Но и иммунодефицитные состояния организма человека, возникшие по различным причинам, могут в свою очередь приводить к развитию хронического тонзиллита [7]. Различные причины (генетические, токсические, химические, радиационные и другие) приводят к активации процесса апоптоза, важного в созревании и дифференцировке лимфоцитов в тимусе, а следовательно, и к развитию иммунодефицитного состояния [5]. В последнее время в литературе встречается мнение, что небные миндалины как место образования лимфоцитов должны быть отнесены к центральным органам иммунитета [2]. В то же время в доступной нам литературе мы не нашли данных о состоянии уровня апоптоза лимфоцитов в небных миндалинах.

Между тем апоптоз являет собой универсальное общебиологическое явление, сущность которого заключается в опосредованных механизмах самоуничтожения клетки с сохранением структурной целостности биологических мембран (цитоплазматической мембраны и мембран оргanelл) [5]. Как подавление, так и стимуляция апоптоза ведут к нарушению гомеостаза лимфоидной ткани небных миндалин, поэтому проявления программированной клеточной гибели лимфоцитов в лимфоидной ткани могут отражать степень поражения органа и эффективность проводимой терапии.

Целью нашей работы было изучить динамику соотношения уровня живых лимфоцитов к уровню лимфоцитов в состоянии апоптоза в смывах из лакун небных миндалин у здоровых людей и на фоне проводимого консервативного лечения хронического тонзиллита.

Материалы и методы

С 2000 по 2004 г. нами было проведено лечение 120 больных компенсированной и декомпенсированной частыми ангинами формами хронического тонзиллита по классификации И.Б. Солдатова, 1975. Среди больных были 48 мужчин и 72 женщины в возрасте от 15 до 45 лет, проживавших в городской и сельской местности Центрального Сибирского региона.

Клинико-лабораторное обследование больных проводили при поступлении, через 1,3,6 месяцев после проведенного лечения и в отдаленные сроки через 10-12 месяцев после консервативного лечения.

Клинико-лабораторное обследование включало:

Анкетирование и осмотр ЛОР-органов;

Определение функционального состояния небных миндалин по данным цитологического и бактериологического исследования содержимого крипт;

Подсчет количества лимфоцитов в состоянии апоптоза в смывах, полученных из лакун небных миндалин.

Оценку функционального состояния небных миндалин проводили по методике, разработанной в Санкт-Петербургском НИИ уха, горла, носа и речи (Попов Е.Л., Пуцина П.Н., 1987), основанной на цитологическом и микробиологическом исследовании материала, извлеченного из крипт [6].

В методе диагностики программированной клеточной гибели использовался набор Apo Direct Kit (BD Pharmingen, Germany). Мазки, приготовленные из смывов с лакун небных миндалин, окрашивали по методу TUNEL. Принцип TUNEL метода: в ядре клеток в состоянии апоптоза имеются разрывы в ДНК, к которым достраивается флуоресцентная метка FITC-dUTP. Реакция происходит при воздействии катализатора - терминал дезоксиинуклеотидил трансферазы (TdT).

Все больные были распределены на четыре группы. Распределение в группах было случайным по возрасту, полу, особенностям функционального состояния и структурных изменений небных миндалин.

Первую группу составили 30 больных, у которых проводилась санация небных миндалин раствором антисептика широкого спектра действия - мирамистина.

Вторую группу составили 30 больных, у которых санация небных миндалин раствором мирамистина сочеталась с озвучиванием небных миндалин с помощью специальной насадки на аппарате «Тонзиллор-2».

Третью группу составили 30 больных, у которых наряду с санацией небных миндалин мирамистином применялся имудон («Solvay Pharma», Франция) - лиофилизированный лизат ряда микроорганизмов, являющийся топическим бактериальным иммунокорректором на уровне системы местного иммунитета.

Четвертую группу составили 30 больных, которым проводилось комплексное лечение хронического тонзиллита, включающее промывание лакун небных миндалин раствором мирамистина, озвучивание небных миндалин низкочастотным ультразвуком, а также применение препарата имудон.

Кроме того, были обследованы 30 пациентов, ранее не болевших ангинами и у которых не обнаружены признаки хронического тонзиллита при фарингоскопии. Они составили группу контроля.

Результаты и их обсуждение

На фоне консервативного лечения хронического тонзиллита во всех группах наблюдения мы зарегистрировали

перераспределение больных по типам функциональной активности небных миндалин (по методу Попова Е.Л.). Если большинство больных во всех группах имели гипокompенсированный тип функциональной активности небных миндалин, то в ближайшие сроки после санации мирами-стином отмечался переход больных в группы с компенсированным либо хорошо компенсированным типами функциональной активности небных миндалин ($p = 0,024$ по критерию Фишера). При статистическом анализе достоверных различий между группами наблюдения не отмечено ни по временному параметру, ни по методу лечения.

Однако при детальном рассмотрении в группе II на фоне сочетанного воздействия мирамистина и низкочастотного ультразвука на небные миндалины отмечается перераспределение больных в хорошо компенсированный тип функциональной активности (высокое лимфоцитообразование и низкая бактериальная обсемененность). Это происходит за счет суммирования эффектов от механического раздражения небных миндалин и снижения антигенной нагрузки на лимфоидный аппарат. В группе III на фоне применения имудона отмечается равномерное перераспределение пациентов в группы с компенсированной и хорошо компенсированным типами функциональной активности (высокое лимфоцитообразование на фоне низкой и умеренной бактериальной обсемененности). Это связано со способностью лизатов бактерий поддерживать адекватную антигенную нагрузку на лимфоидный аппарат небных миндалин. Особенно выражался эффект от лечения в первые полгода после проведенного курса (рис. 1).

Однако для стабильного улучшения иммунологической функции небных миндалин у больных хроническим тонзиллитом необходимо было не только уменьшить антигенную нагрузку на лимфоидный аппарат миндалин и простимулировать их механически, но и создать модель антигенной нагрузки на лакунарный аппарат, что мы и наблюдали в IV группе. Действие мирамистина, имудона и низкочастотного ультразвука выражается в том, что небные миндалины работают на более высоком уровне без тенденции к декомпенсации.

У пациентов с декомпенсированной формой хронического тонзиллита (V тип функциональной активности небных миндалин) достоверного усиления лимфоцитообразования не отмечалось на фоне лечения хронического тонзиллита во всех группах наблюдения.

У 30 пациентов без клинических признаков хронического тонзиллита в смывах из лакун небных миндалин при окраске мазков методом TUNEL определяется примерно равное количество живых лимфоцитов и лимфоцитов в состоянии апоптоза.

С целью подтверждения предположения о создании иммунологической модели антигенной нагрузки лизатами бактерий нами было изучено изменение уровня жизнеспособности лимфоцитов на фоне проводимого консервативного лечения хронического тонзиллита.

Исследуя влияние консервативных методов лечения на генез лимфоцитов, мы отметили следующую динамику. В I группе наблюдения на фоне санации лакун небных миндалин мирамистином достоверного изменения уровней живых лимфоцитов и лимфоцитов в состоянии апоптоза не выявлено (табл. 1).

В группах II-IV в первый месяц после консервативного лечения хронического тонзиллита возрастает количество живых лимфоцитов ($p < 0,001$ по χ^2) и соответственно снижается количество лимфоцитов в состоянии апоптоза ($p < 0,001$ по χ^2), но к 6 месяцам после проведенного лечения в группах II и III достоверных различий данного соотношения не выявлено между результатами исследования, проведенными до лечения и результатами, полученными через 6 месяцев. Но в IV группе наблюдения на фоне комплексного лечения количество живых лимфоцитов сохраняется на достаточно высоком уровне ($p < 0,001$ по χ^2) и к 6 месяцу наблюдения. В IV группе количество живых лимфоцитов выше, чем в других группах наблюдения к 6-му месяцу после проведенного курса, соответственно количество лимфоцитов в состоянии апоптоза ниже, чем в других группах наблюдения ($p < 0,001$).

Важно отметить, что количество живых лимфоцитов всегда выше количества апоптотичных лимфоцитов, даже на исходном патологическом уровне. Лишь у небольшого числа пациентов уровень апоптотичных лимфоцитов превышал уровень живых лимфоцитов в смывах с лакун небных миндалин. У этих пациентов по всем методикам исследования функциональной активности небные миндалины соответствовали декомпенсированной форме хронического тонзиллита. Пациентам, у которых такое патологическое соотношение не изменилось и на фоне лечения, была произведена тонзиллэктомия.

Таким образом, консервативное лечение хронического тонзиллита, включающее санацию небных миндалин, хоть и приводит к снижению бактериальной нагрузки на лимфоидный аппарат небных миндалин, но достоверного изменения соотношения количества живых лимфоцитов к количеству лимфоцитов в состоянии апоптоза не вызывает. Сочетанные методы лечения, которые наряду с снижением бактериальной нагрузки приводят и к стимуляции лимфоцитообразования, вызывают изменение соотношения количества живых лимфоцитов к количеству лимфоцитов в состоянии апоптоза в большей части за счет возрастания живых лимфоцитов. Комплексное лечение хронического тонзиллита, влияя на все звенья патогенеза, позволяет сохранить высокое лимфоцитообразование, а соответственно, и оптимальное соотношение количества живых лимфоцитов к количеству лимфоцитов в состоянии апоптоза на срок до 6-7 месяцев. На основании полученных результатов можно предположить, что комплексное лечение является более эффективным, чем монотерапия, а также эффективнее, чем сочетание санации лакун небных миндалин лишь с физиолечением или лишь с иммуномодуляторами.

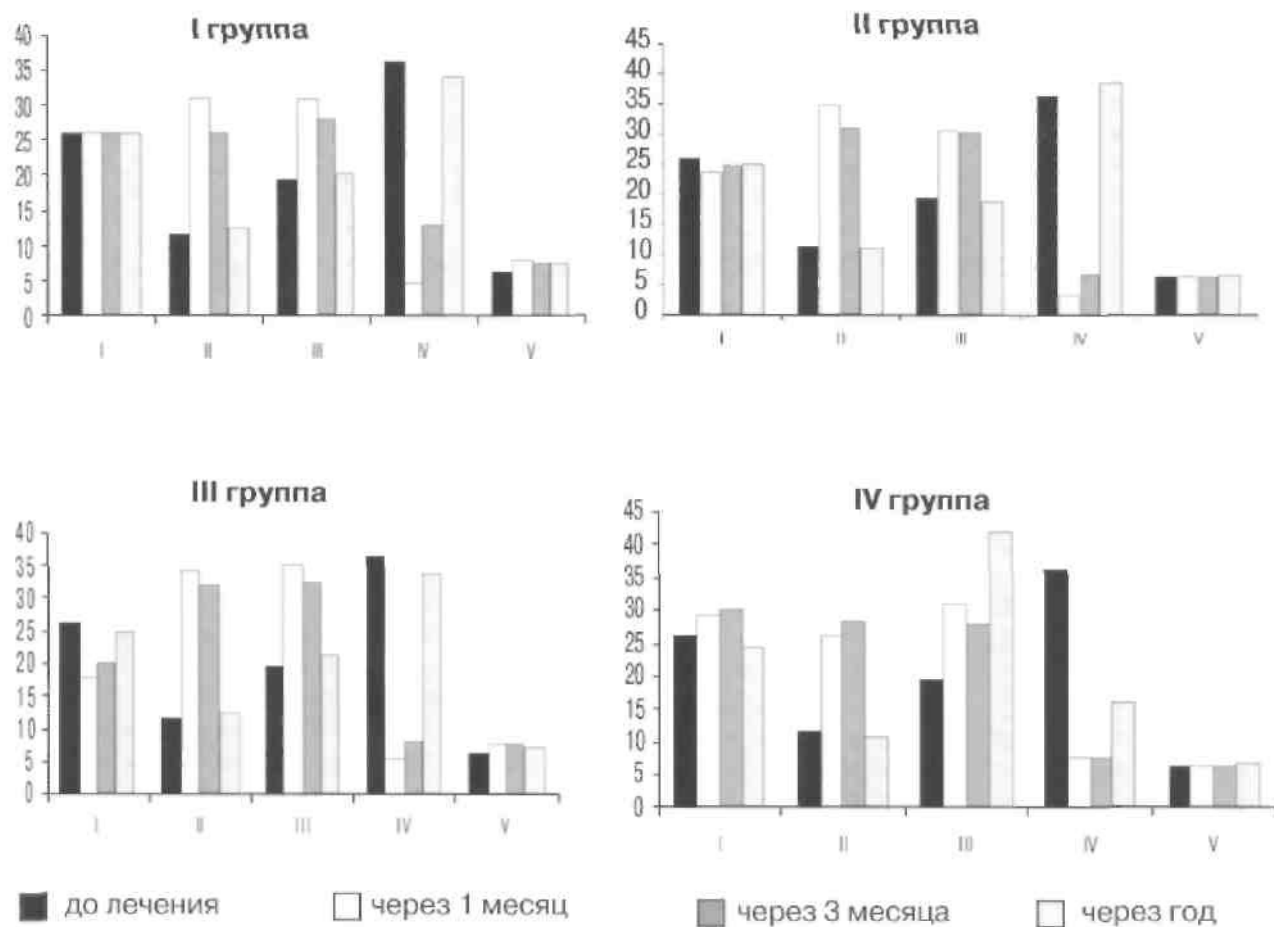


Рис. 1. Распределение больных по группам функциональной активности небных миндалин до лечения и через 1, 3 и 12 месяцев после проведенного комплексного лечения. По оси абсцисс — тип функциональной активности небных миндалин; по оси ординат — распределение больных по типам в %.

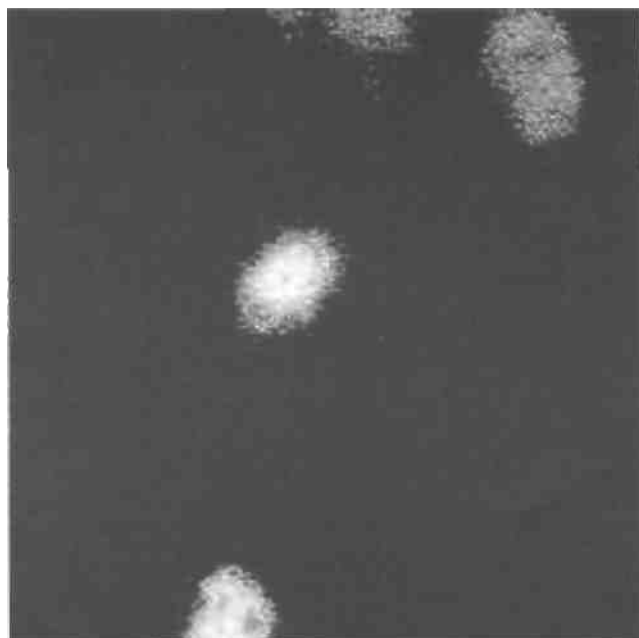


Рис. 2. Лимфоциты в состоянии апоптоза (участки дефрагментации лимфоцитов внутри целой цитоплазматической

мембраны).

Рис. 3. Живые лимфоциты.

Динамика цитоморфологической картины на фоне проводимого лечения

Признак	Сроки наблюдения	I группа, М ± m	II группа, М + m	III группа, М ± m	IV группа, М ± m
Лимфоциты живые	до лечения	58,00 ± 4,55	56,12 + 4,06	57,25 ± 1,56	58,02 ± 1,26
	через 1 месяц	68,75 ± 4,90	79,71 ± 1,36"	80,25 ± 2,76*	84,00 ± 0,36"
	через 6 месяцев	65,69 ± 0,32	65,12 ± 1,25	68,36 ± 1,45	80,56 ± 1,47
	через год	61,35 + 0,65	60,85 ± 1,47	65,32 ± 1,15	62,45 ± 1,5
Лимфоциты в состоянии апоптоза	до лечения	44,10 + 4,34	44,14 ± 1,3	42,14 ± 1,3	45,56 ± 2,06
	через 1 месяц	41,67 + 5,27	23,67 ± 1,27"	26,33 ± 2,88"	16,00 ± 0,36"
	через 6 месяцев	39,75 + 2,54	35,05 ± 1,34	38,15 ± 2,69	26,17 ± 0,58" p2-4 < 0,001 p3-4 < 0,01
	через год	40,12 ± 0,32	38,85 ± 0,25	38,15 ± 1,34	39,75 ± 1,34

Примечания. ' — различия достоверны при $p < 0,01$ по χ^2 ; " — различия достоверны при $p < 0,001$ по χ^2 .