

А.С. Красницкая, А.С. Шитихина

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОНСЕРВАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ВИРУС ЭПШТЕЙН – БАРР ИНФЕКЦИЕЙ*Владивостокский государственный медицинский университет (Владивосток)*

Для оценки клиничко-иммунологической эффективности иммуномодулятора реаферон-ЕС-липинта были обследованы в динамике 70 человек (41 женщина и 29 мужчин) с диагнозом хронический тонзиллит. Из них у 30 человек диагностирована вирус Эпштейн-Барра (ВЭБ) инфекция (1-я группа), у 40 человек – *Streptococcus pyogenes* (2-я группа). Выявлены особенности локального иммунитета при хроническом тонзиллите, ассоциированном с ВЭБ-инфекцией. Они характеризуются увеличением IL-10 в разгаре болезни и IL-1β, IL-6 и IL-4 на 7 сутки исследования в слюне у пациентов с ВЭБ-инфекцией. Консервативное лечение пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией реаферон-ЕС-липинтом обеспечивало ускорение нормализации локального цитокинового профиля и клинически эффективно в 63,3 % случаев.

Ключевые слова: цитокины, вирус Эпштейн – Барра инфекция, хронический тонзиллит

CLINICAL-IMMUNOLOGY EFFICIENCY OF CONSERVATIVE TREATMENT OF PATIENTS WITH CHRONIC TONSILLITIS ASSOCIATED WITH EPSTEIN – BARR VIRUS INFECTION

A.S. Krasnitskaja, A.S. Shitihina

Vladivostok State Medical University, Vladivostok

To assess clinical-immunological efficiency of an immunomodulator reaferon-ES-lipinta 70 people with chronic tonsillitis (41 women and 29 men) were surveyed in dynamics. Among them 30 people had Epstein – Barr virus infection (1st group), and in 40 people (the 2nd group) *Streptococcus pyogenes* was diagnosed. The features of local immunity at chronic tonsillitis associated with the EBV infection were revealed. They are characterized by increase of IL-10 in the high point of an illness and of IL-1β, IL-6 and IL-4 on the 7th day of research in saliva of patients with the EBV infection. Conservative treatment of patients with chronic tonsillitis associated with the EBV infection of the reaferon-EC-lipint provided acceleration of normalization of a local profile of cytokine and was clinically effective in 63,3 % of cases.

Key words: cytokines, Epstein – Barr virus infection, chronic tonsillitis

Проблема хронического тонзиллита, несмотря на появление современных методов его диагностики и лечения, далека от своего решения.

Хронический тонзиллит встречается у 5 – 10 % взрослого населения [3, 7].

В настоящее время хронический тонзиллит трактуется как хронический воспалительный процесс в миндалинах, приводящий к патологическим изменениям, нарушающим иммунологическую функцию организма, при этом сами миндалины становятся источником инфекции [5].

Важный раздел «тонзиллярной проблемы» — установление этиопатогенетически обоснованных показаний к различным методам лечения, разработка достоверных критериев оценки эффективности лечебных мероприятий. С этой точки зрения большое внимание уделяется корреляции клинических признаков с данными бактериологических и иммунологических исследований. Изучение характера микробной флоры небных миндалин позволяет считать основным возбудителем хронического тонзиллита гемолитический стрептококк, однако нельзя не принимать во внимание возрастающую роль в этиологии золотистого стафилококка, аденовирусов, герпесвирусов [6].

Учитывая важную роль небных миндалин в формировании локального иммунитета, особенно важ-

ным представляется использование современных иммунологических методов, позволяющих оценить состояние различных звеньев системы иммунитета. В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы было исследование клиничко-иммунологических особенностей консервативного лечения на примере пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с вирус Эпштейн – Барр инфекцией.

МЕТОДИКА

Обследовано в динамике 70 человек (41 женщина и 29 мужчин) с диагнозом хронический тонзиллит в период разгара болезни: из них у 30 человек выявлен вирус Эпштейн – Барр (1-я группа), у 40 человек – *Streptococcus pyogenes* (2-я группа). Больные обследованы в период разгара заболевания, угасания клинических симптомов и в период реконвалесценции. В группу сравнения включены 15 практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту. Все пациенты с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с вирус Эпштейн – Барр инфекцией, получали реаферон-ЕС-липинт по 1 млн. МЕ 2 раза в сутки, в течение 10 дней. Одновременно с иммунокоррекцией у всех пациентов с хроническим тонзиллитом проводилась этиотропная и местная терапия. Все пациенты наблюдались в течение года.

Исследовали материал из зева на микрофлору и чувствительность к антибиотикам, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) определяли ДНК вируса Эпштейн – Барр в слюне и соскобе слизистых с задней стенки глотки в период обострения. Для выявления ДНК использовали ПЦР и тест-системы ЗАО «Вектор-Бест» г. Новосибирск. Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли антитела различных классов к вирусу Эпштейн – Барр: EBV-VCA-IgM, EBV-EA-IgG, EBV-NA-IgG в сыворотке крови. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel, Biostat с применением непараметрических методов и корреляционного анализа. Результаты представляли в виде медианы (Me), достоверность средних значений по t-критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе динамики локального цитокинового профиля у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией (табл. 1) установлено увеличение провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-17 в разгаре заболевания. В период угасания клинических симптомов увеличивался уровень всех провоспалительных цитокинов. К 28-м суткам снижалось содержание IL-1 β , IL-6 ($p < 0,05$). IL-1 β ответственен за механизмы координации и играет важную регуляторную роль на всех стадиях воспалительного процесса. При ответе на внедрение патогенов продукция IL-1 начинается в зоне первого контакта клеток-продуцентов с микроорганизмами, т.е. местно в области повреждения. В связи с этим и первые проявления биологического действия IL-1 сводятся к активации местных защитных реакций [1].

У обследованных пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией уровень IL-17 был повышен в 1-й день исследования и сохранялся высоким на всем этапе мониторинга. По данным С.А. Кетлинского (2008), IL-17 является мощным регулятором нейтрофилов. Основными продуцентами его являются CD4+ и CD8+ Т-клетки. Преимущественно провоспалительные

и гемопоэтические активности IL-17 являются следствием их способности стимулировать продукцию цитокинов и хемокинов. IL-17 является наиболее активным в индуцировании продукции бета-2-дефензина человека, колониестимулирующего фактора для гранулоцитов и воспалительного белка макрофага-3 человека, которые являются основными компонентами врожденного иммунитета [1]. Высокая локальная концентрация IL-17 свидетельствует о персистенции воспаления.

Оценка уровня противовоспалительных цитокинов у пациентов 1-й группы позволила выявить увеличение уровня IL-10 и TGF- β_1 в 1-е сутки исследования. Интерлейкин-10 вырабатывается Th2-клетками, а также моноцитами и цитотоксическими Т-клетками. Основной эффект интерлейкина-10 заключается в подавлении синтеза цитокинов Th1-клетками и в снижении активности макрофагов, в том числе продукции воспалительных цитокинов. Интерлейкин-10 подавляет экспрессию молекул МНС II класса, пролиферацию Т-клеток, вызванную митогенами, а также развитие гиперчувствительности замедленного типа. Одновременно может стимулировать синтез IgE. В результате интерлейкин-10 способствует развитию гуморальной составляющей иммунного ответа. ДНК и аминокислотные последовательности человеческого IL-10 высокоомологичны с 1 фактором, антиген-распознающего рецептора В-клеток белком, который кодируется геном вируса Эпштейна – Барр, и который имитирует многие клеточные биологические функции этого цитокина, и, следовательно, может играть роль во взаимодействии «хозяин-вирус» [2, 7].

В период угасания клинических симптомов у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией, возрастал уровень IL-4 и TGF- β_1 . К 28 дню исследования снижался уровень всех противовоспалительных цитокинов за исключением TGF- β_1 .

При анализе цитокинового профиля слюны у пациентов 2-й группы установлено увеличение всех провоспалительных цитокинов (табл. 2) с 1 по 7 дни исследования, особенно IL-17 в 1 день и IL-1 β на 7-й

Таблица 1

Уровень цитокинов в слюне у пациентов хроническим тонзиллитом, ассоциированным с вирус Эпштейн – Барр инфекцией

Цитокины	1-й день исследования. Me (Q1; Q2) (p_1)	7-й день исследования. Me (Q1; Q2) (p_2)	28-й день исследования. Me (Q1; Q2) (p_3)	Контрольная группа (практически здоровые) Me (Q1, Q2)
IL-1 β	204,7 (120,5; 355)*#	376,3 (141; 534)*#	109,1 (42,2; 206,8)*#	2,1 (0,3; 14,8)
IL-6	2,7 (2,7; 8,5)#	14,45 (2,7; 20,2)*#	2,6 (2,5; 2,7)#	2 (2,7; 6,2)
IL-17	48,5 (12,9; 90,4)*#	45,4 (17,6; 165,2)*#	46,7 (7; 74,5)*#	37,2 (8,2; 48,1)
IL-4	2,7 (2,7; 8,5)#	14,45 (2,7; 20,2)*#	2,6 (2,5; 2,7)#	2 (2,7; 6,2)
IL-10	8,7 (6,1; 15,3)*#	6,2 (6,1; 6,4)	6,2 (6,1; 6,4)	6 (5,5; 6,7)
TGF- β_1	6,3 (3; 12,9)*#	8,5 (8; 8,9)*#	7,5 (7; 18,9)*#	3,9 (3,1; 4,6)

Примечание: Me – медиана, Q1 – нижний квартиль, Q2 – верхний квартиль, * – наличие статистически значимых различий с контрольной группой ($p < 0,05$), критерий Манна – Уитни (U), # – наличие статистически значимых различий между сравниваемыми группами по этиологии.

день исследования. В период реконвалесценции снижался уровень IL-1 β , IL-6, IL-17, однако, на протяжении всего периода мониторинга их значения превышали показатели контрольной группы.

IL-6 синтезируется многими типами клеток, участвующими в инициации и регуляции воспаления и иммунного ответа: Т-лимфоцитами, моноцитами/макрофагами и некоторыми другими клетками. Данный цитокин в организме активирует пролиферацию активированных антигеном В-лимфоцитов, активирует пролиферацию Т-лимфоцитов, усиливает функциональную активность цитотоксических лимфоцитов, стимулирует гранулоцитарный росток кроветворения и проявления активности мульти-CSF в сочетании с IL-13. Провоспалительное действие IL-6 реализуется за счет активации экспрессии молекул адгезии на эндотелии и хемотаксиса некоторых типов лейкоцитов, усиления функциональной активности фибробластов и остеокластов, активации острофазового ответа путем индукции синтеза в печени С-реактивного белка, сывороточного амилоида А и фибриногена. Так IL-6, кроме главной функции активатора защитных реакций, выполняет также роль регулятора развития иммунитета [4].

В исследовании выявлено раннее повышение противовоспалительного цитокина TGF- β_1 у пациентов 2-й группы (табл. 2). В период угасания клинических симптомов увеличивался уровень IL-4. Зафиксировано снижение уровня IL-4 до контрольных значений и TGF- β_1 в период реконвалесценции. Содержание IL-10 было в пределах нормы на всем протяжении исследования.

Сравнительный анализ локального цитокинового профиля двух исследуемых групп выявил различия динамики содержания IL-17, IL-4 и TGF- β_1 в зависимости от этиологии хронического тонзиллита: при бактериальной инфекции они были в 1,5 раза выше, чем при вирусной. К 28-му дню нормализовались практически все показатели, за исключением IL-1 β , IL-17. Уровень IL-10 при хроническом тонзиллите вирусной природы повышен в разгаре болезни, а в период угасания клинических симптомов регистрировались высокие показатели IL-1 β , IL-6, IL-4 и TGF- β_1 . К 28-м суткам снижались показатели IL-6, IL-4 и IL-10 до уровня контрольных значений, но сохранялся высокий уровень IL-1 β , IL-17 и TGF- β_1 .

Соотношение про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с вирус Эпштейн – Барр инфекцией было выше, чем у пациентов с бактериальной инфекцией с 1-го по 7-й день исследования ($p < 0,05$), к 28-му дню показатели в обеих группах не отличались друг от друга (табл. 3).

При анализе влияния реаферон-ЕС-липидта на состояние пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с вирус Эпштейн – Барр инфекцией, можно отметить его положительный эффект, проявляющийся в улучшении соответствующих субъективных и объективных клинических показателей. У большинства пациентов (19 человек – 63,3 %) оно было значительным и выразилось в улучшении общего самочувствия, исчезновении дискомфорта, сухости, першения в горле, исчезновении неприятного запаха изо рта, а также в сни-

Таблица 2
Уровень цитокинов в слюне у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным со *Streptococcus pyogenes*

Цитокины	1-й день исследования. Me (Q1, Q2)	7-й день исследования. Me (Q1, Q2)	28-й день исследования. Me (Q1, Q2)	Контрольная группа (практически здоровые) Me (Q1, Q2)
IL-1 β	87,7 (59,5; 297,5)*#	141 (75; 376,3)*#	109,1 (75,1; 187,9)*#	2,1 (0,3; 14,8)
IL-6	4,15 (2,7; 15,9)*#	8,5 (2,7; 8,5)*#	5,6 (2,7; 5,6)*#	2 (2,7; 6,2)
IL-17	79,5 (14,2; 138,3)*#	53,9 (16,8; 135,3)*#	51,2 (18,2; 106,7)*#	37,2 (8,2; 48,1)
IL-4	4,15 (2,7; 15,9)*#	8,5 (2,7; 8,5)*#	5,6 (2,7; 5,6)*#	2 (2,7; 6,2)
IL-10	6,4 (6,1; 6,7) #	6,3 (6,2; 6,4)	6,2 (5,8; 7,12)	6 (5,5; 6,7)
TGF- β_1	10,7 (4,6; 14,3)*#	4,6 (3,1; 13,7)*#	4,6 (3,1; 13,7)*#	3,9 (3,1; 4,6)

Примечание: Me – медиана, Q1 – нижний квартиль, Q2 – верхний квартиль, * – наличие статистически значимых различий с контрольной группой ($p < 0,05$), критерий Манна – Уитни (U), # – наличие статистически значимых различий между сравниваемыми группами по этиологии.

Таблица 3
Соотношение про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов с хроническим тонзиллитом

Дни исследования	Пациенты хроническим тонзиллитом, ассоциированным с вирус Эпштейн – Барр инфекцией	Пациенты с хроническим тонзиллитом, ассоциированным со <i>Streptococcus pyogenes</i>
1-й день	14,45#	8,06
7-й день	14,96#	10,48
28-й день	11,42	10,11

Примечание: # – наличие статистически значимых различий между сравниваемыми группами по этиологии.

жении частоты простудных заболеваний. Наряду с перечисленными субъективными показателями у пациентов были зарегистрированы такие объективные изменения, как уменьшение гиперемии, инфильтрации передних и задних небных дужек, исчезновение казеозных пробок в лакунах миндалин, сужение расширенных лакун, уменьшение и безболезненность шейных и подчелюстных лимфатических узлов и нормализация температуры тела. У нескольких человек (36,7 %) было отмечено улучшение, которое проявилось в аналогичных, но не столь явных изменениях перечисленных объективных и субъективных показателей.

Оценивая локальный профиль цитокинов на фоне лечения иммуностимулирующим препаратом, установлено, что снижение содержания IL-1 β , IL-6, IL-4, IL-10 и TGF- β_1 происходило у всех пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией. Важным является снижение IL-4 после лечения у пациентов 1-й группы, что подтверждается сопряженностью признаков ($\chi^2 = 4,033, p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлены особенности локального иммунитета при хроническом тонзиллите, ассоциированном с ВЭБ-инфекцией. Они характеризуются увеличением IL-10 в разгаре болезни и увеличением IL-1 β , IL-6 и IL-4 на 7-е сутки исследования в слюне у пациентов с ВЭБ-инфекцией ($p < 0,05$).

Длительное сохранение высокого уровня IL-17 при хроническом тонзиллите в исследованных группах иллюстрирует персистенцию воспаления.

Консервативное лечение пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-

инфекцией реаферон-ЕС-липином обеспечивало ускорение нормализации локального цитокинового профиля и клинически эффективно в 63,3 % случаев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Завгородняя Е.Г. Цитокины и их место в диагностике и лечении ряда заболеваний ЛОР-органов // Вестник оториноларингологии. — 2008. — № 3. — С. 74–76.
2. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. — СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2008. — 552 с.
3. Машкова Т.А., Желтова А.Н., Белобородова Л.Л. уточняющая диагностика степени декомпенсации хронического тонзиллита // Вестник оториноларингологии. — 2010. — № 5. — С. 35–37.
4. Морозова С.В. Оценка эффективности местной иммунотерапии в лечении хронического тонзиллита // Российская оториноларингология. — 2010. — № 6 (49). — С. 113–115.
5. Филатова С.В., Симонова А.В., Артемьев М.Е., Голубева Н.М. иммунный статус больных хроническим тонзиллитом до и после тонзилэктомии // Вестник оториноларингологии. — 2002. — № 1. — С. 18–21.
6. Balandraud N., Roudier J., Roudier C. Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis // Autoimmun. Rev. — 2004. — Vol. 3. — P. 362–367.
7. Brook I. The role of beta-lactamase-producing bacteria in mixed infection // BMC Infect. Dis. — 2009. — Vol. 9. — P. 202.
8. Perry M., Whyte A. Immunology of the tonsils // Immunology Today. — 1998. — Vol. 9. — P. 414–421.

Сведения об авторах

Красницкая Александра Сергеевна – очный аспирант кафедры патологической физиологии ГБОУ ВПО ВГМУ Минздрава России (690012, г. Владивосток, ул. Калинина, 57–128; тел.: 89084480584; e-mail: mi-mi-85@mail.ru)
Шитихина Алена Сергеевна – студентка 305-й группы лечебного факультета ГБОУ ВПО ВГМУ Минздрава России (690066, г. Владивосток, ул. Шилкинская, 11–356; тел.: 89644538454; e-mail: shish92@mail.ru)