

УДК 616. 322-002-022-085.37

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ВИРУС ЭПШТЕЙНА-БАРР ИНФЕКЦИЕЙ

Маркелова Е.В., Красницкая А.С., Боровская Н.А., Шитихина А.С.

ГБОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Владивосток,
e-mail: mi-mi-85@mail.ru

Цель работы: исследование содержания цитокинов у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией, до и после проведенного иммуностимулирующего лечения. Методология проведения работы: в исследование включено 73 человека с диагнозом «хронический тонзиллит». У всех пациентов произведен забор материала из зева на микрофлору и чувствительность к антибиотикам, а также методом ПЦР определяли ДНК вируса Эпштейна-Барр. Пациенты были разделены на две группы: 1-я группа (26 человек) получала помимо стандартной схемы лечения иммуномодулирующую терапию реферон-ЕС-липинтом, 2-я группа (27 человек) получала стандартное лечение. Контролем служили 20 человек – практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту. Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли EBV-VCA-IgM, EBV-EA-IgG, EBV-NA-IgG в сыворотке крови. Определение цитокинов (IL-1 β , IL-17, IL-10, IL-4) в слюне проводили с помощью специфических реактивов фирмы «R&D Diagnostic. Inc» (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), содержание секреторного IgA определяли в слюне методом твердофазного ИФА с применением специфических реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Статистическую обработку результатов проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel. Результаты работы: при сравнении локального цитокинового статуса двух исследуемых групп были выявлены следующие различия: уровень IL-10 сохранялся высоким с 1 по 7 дни исследования у пациентов, получавших реферон-ЕС-липинт. Уровень IL-4 значительно повышался в разгар заболевания у данных пациентов. Показатели IL-17 достоверно снижались в период реконвалесценции. Выводы: применение препарата реферон-ЕС-липинт в амбулаторной практике подтвердило целесообразность его использования и эффективность препарата в комплексном лечении хронического тонзиллита, ассоциированного с ВЭБ-инфекцией, что подтверждается полученными клинико-лабораторными данными, в том числе данными цитокинового исследования.

Ключевые слова: хронический тонзиллит, вирус Эпштейна-Барр инфекция, реферон-ЕС-липинт

USE OF IMMUNOMODULATING THERAPY IN TREATMENT OF PATIENTS WITH CHRONIC ASSOCIATED ABOUT THE VIRUS EPSTEINA-BARR BY THE INFECTION

Markelova E.V., Krasnitskaja A.S., Borovskaya N.A., Shitihina A.S.

GBOU VPO «The Vladivostok state medical university» Ministries of health and social development
Russia Federation, Vladivostok, e-mail: mi-mi-85@mail.ru

Work purpose: contents research cytokines at patients with the chronic tonsillitis associated with the WEB INFECTION, before the carried-out immunostimulatory treatment. Methodology of carrying out work: 73 persons are included in research with the diagnosis chronic tonsillitis. At all patients the material fence from a pharynx on microflora and sensitivity to antibiotics is made, and also by a PtsR method determined DNA of a virus of Epstein – Barrel. Patients were divided into two groups: the 1st group (26 people) received besides the standard scheme of treatment immunomodulating therapy reaferon-ES-lipintom, the 2nd group (27 people) received standard treatment. As control 20 people – almost healthy volunteers comparable on a floor and age served. Method of the immunoferrmental analysis (IFA) determined EBV-VCA-IgM, by EBV-EA-IgG, EBV-NA-IgG in blood serum. Definition cytokines (IL-1 β , IL-17, IL-10, IL-4,) in a saliva carried out by means of specific reactants of firm «R& D Diagnostic. Inc» a method a sandwich version of the tverdofazny immunoferrmental analysis (IFA), the maintenance of secretary Ig A determined (USA) in a saliva by a method of tverdofazny IFA with application of specific reactants of JSC Vektor-Best (Russia). Statistical processing of results carried out by means of the computer Microsoft Excel programs. Results of work: At comparison of the local cytokines status of two studied groups the following distinctions were revealed: level of IL-10 remained high from 1 to 7 days of research at the patients who were receiving reaferon-ES-lipint. IL-4 level considerably raised at the height of a disease at these patients. IL-17 indicators authentically decreased in a rekonvalestsentsiya. Conclusions: preparation applications reaferon-ES-lipint in out-patient practice confirmed expediency of its use and efficiency of a preparation in complex treatment of the chronic tonsillitis associated with the WEB INFECTION that proves to be true the received kliniko-laboratory data, including data of tsitokinovy research.

Keywords: a chronic tonsillitis, a virus Epstein-Barr an infection, reaferon-ES-lipint

Хронический тонзиллит относится к наиболее распространенным заболеваниям верхних дыхательных путей в различных возрастных группах. Причиной хронического тонзиллита чаще бывает вирусная инфекция, которая в дальнейшем сменяется бактериальной [2]. Согласно современным данным, хронический тонзиллит – полиэтиологическое заболевание, в генезе которого играют роль многочисленные факторы, однако причиной обострения воспалительного процесса в глотке

чаще является воздействие микроорганизмов. Основными возбудителями является: *Streptococcus- α -haemolyticus*, β -*haemolyticus*, γ -*haemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *CNSStaphylococcus*, *Neisseriaspp.*, *Haemophilusspp*, *Corynebacteriumspp*, грибы рода *Candida* [3].

Вирусы могут играть роль «протравы», способствующей развитию бактериальной инфекции. Обосновано мнение о том, что инфекция играет основную роль не в возникновении, но в хронизации тонзиллита [4, 5, 6].

В настоящее время много исследований посвящено вирусу Эпштейна-Барр (ВЭБ) в развитии различных воспалительных заболеваний, в том числе и хронического тонзиллита.

ВЭБ обнаруживается у 90–92% населения земного шара [1]. Важной особенностью ВЭБ является избирательное инфицирование В-лимфоцитов через специфический рецептор CD21. Долгое время В-лимфоциты считались единственной мишенью ВЭБ в организме больного. Однако позже было установлено, что инфицируются также клетки эпителия носоглотки и нейтрофилы. Возможно инфицирование Т-лимфоцитов, а также дендритных клеток, несущих на поверхности рецептор CD21 [7, 8].

Иммунные нарушения при хроническом тонзиллите носят комплексный характер, они касаются как клеточного, так и гуморального иммунитета, влекут за собой утяжеление течения, учащение осложнений заболевания.

Как для оптимизации терапии, так и для предупреждения формирования в дальнейшем индуцированного иммунодефицитного состояния для лечения хронического тонзиллита был применен препарат рекомбинантного α -интерферона: реаферон-ЕС-липинт.

Целью нашей работы явилось исследование содержания цитокинов у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией, до и после проведенного иммуотропного лечения.

Материалы и методы исследования

В исследование включено 73 человека (59 женщин и 14 мужчин) с диагнозом «хронический тонзиллит», выставленным на основании жалоб пациентов, анамнестических данных, клинической картины. У всех пациентов произведен забор материала из зева на микрофлору и чувствительность к антибиотикам, а также методом ПЦР определяли ДНК вируса Эпштейна-Барр. Из них у 53 человек диагностирована ВЭБ-инфекция. Пациенты были разделены на две группы: 1-я группа (26 человек) получали помимо стандартной схемы лечения иммуномодулирующую терапию реаферон-ЕС-липинтом, 2-я группа (27 человек) получали стандартное лечение. У всех обследованных пациентов хронический тонзиллит

был в стадии обострения, о чем свидетельствовали наличие клинических симптомов, данные анамнеза и объективного осмотра. Больные обследованы в период разгара заболевания (1 день болезни), угасания клинических симптомов (7-й день) и в период реконвалесценции (28-й день). Контролем служили 20 человек – практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту.

Для выявления ДНК ВЭБ использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Материалом для выделения ДНК ВЭБ служили кровь, слюна и эпителиальные клетки небных миндалин. Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли EBV-VCA-IgM, EBV-EA-IgG, EBV-NA-IgG в сыворотке крови. Определение цитокинов (IL-1 β , IL-17, IL-10, IL-4) в слюне проводили с помощью специфических реактивов фирмы «R&D Diagnostic. Inc» (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), содержание секреторного IgA определяли в слюне методом твердофазного ИФА с применением специфических реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel, Biostat с применением непараметрических методов и корреляционного анализа. Результаты представляли в виде средней арифметической ($M \pm m$). Достоверность различия определяли при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

У пациентов, получавших реаферон-ЕС-липинт, отмечалось уменьшение продолжительности основных клинических симптомов хронического тонзиллита по сравнению с пациентами 2-й группы. Уже в течение первых суток пациенты отмечали уменьшение болевых ощущений в глотке. Полное исчезновение болевого симптома на 3-й день с момента лечения отметили 86,7% пациентов основной группы. При фарингоскопии отечность и гиперемия слизистой оболочки глотки, казеозные массы в лакунах исчезли на 4-й день у пациентов, получавших лечение препаратом α -интерферона, и на 7-й день у пациентов с хроническим тонзиллитом вирусной природы, получавших стандартное лечение.

В процессе лечения реафероном-ЕС-липинтом не отмечалось ни одного случая нежелательных побочных эффектов применения препарата.

Исходно до назначения терапии оценка локального цитокинового профиля у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией (табл. 1) позволила установить существенное увеличение уровня провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-17 в первые и на 7 сутки исследования с постепенным снижением к 28 дню ($p < 0,05$). Уровень ИЛ-17 в период реконвалесценции был значительно ниже по сравнению с пациентами 2 груп-

пы. Установлено раннее повышение про-
тивовоспалительного цитокина ИЛ-10 ис-
ходно и в период угасания клинических
симптомов с последующим снижени-
ем до нормальных величин на 28 сутки
($p < 0,05$). Причем показатели данного ци-
токина на 7 день исследования превышали
уровень ИЛ-10 у пациентов, получавших

стандартное лечение. Уровень ИЛ-4 исход-
но не отличался от группы контроля, до-
стигал максимально высокого значения на
7-е сутки и сохранялся высоким в период
реконвалесценции. Однако в период уга-
сания клинических симптомов у пациен-
тов 2 группы показатели данного цитокина
значительно были ниже ($p < 0,05$).

Таблица 1

Показатели уровня цитокинов у пациентов с хроническим тонзиллитом,
ассоциированным с ВЭБ-инфекцией, получавших лечение реаферон-ЕС-липидом,
и у людей контрольной группы.

№ п/п	Показатели, пг/мл	Исследуемые группы			
		Пациенты 1 группы ($n = 26$)		Здоровые ($n = 20$)	
		1-й день	7-й день	28-й день	
1	ИЛ-1 β	23,68 \pm 2,6*	12,38 \pm 2,8*	7,25 \pm 2,31	5,04 \pm 2,37
2	ИЛ-17	56,72 \pm 1,9*	43,60 \pm 8,9*	16,18 \pm 6,2#	11,1 \pm 1,82
3	ИЛ-10	13,47 \pm 3,0*	12,29 \pm 2,7*#	8,3 \pm 0,6	5,31 \pm 0,43
4	ИЛ-4	7,8 \pm 0,9	11,45 \pm 1,2*#	10,4 \pm 0,63*	3,33 \pm 0,07

Примечание. Статистическая достоверность: с группой контроля – * – $p < 0,05$; между группами сравнения – # – $p < 0,05$.

Следовательно, у пациентов с хрониче-
ским тонзиллитом, ассоциированным
с ВЭБ-инфекцией, получавших иммуномо-
дулирующее лечение, в разгар заболевания
значительно повышен уровень ИЛ-1 β , ИЛ-17,
ИЛ-10. При угасании клинических симпто-
мов существенно возрастал уровень ИЛ-10 и
ИЛ-4 по сравнению со второй группой, одна-
ко достоверно снижался уровень ИЛ-17.

Установлено повышение провоспали-
тельного цитокина ИЛ-1 β в слюне пациентов
с хроническим тонзиллитом, ассоциирован-
ным с ВЭБ-инфекцией, получавших стан-
дартное лечение (табл. 2) в первые и 7 сутки
исследования с последующим достоверным
снижением в период реконвалесценции.
ИЛ-17 остается высоким на всем протяжении
этапа мониторинга. Уровень противовос-
палительного цитокина ИЛ-10 повышался

в первые сутки исследования с последую-
щим снижением до нормальных величин с
7 по 28 сутки ($p < 0,05$). Оценка уровня ИЛ-4
у пациентов 2 группы показала, что исходно
его значение не отличалось от контрольной
группы, с дальнейшим его увеличением
в период стихания клинических симпто-
мов и сохранением высокого значения до
28 суток. Следовательно, в период разгара
заболевания при выраженных клинических
проявлениях у пациентов с хроническим
тонзиллитом, ассоциированным с вирусной
инфекцией, не получавших иммуностиму-
лирующее лечение, существенно увеличен уровень
ИЛ-1 β , ИЛ-17, ИЛ-10, ИЛ-4. Причем у пациен-
тов этой группы значение ИЛ-10 и ИЛ-4 ниже,
а содержание ИЛ-17 – выше, чем у пациентов,
получавших реаферон-ЕС-липид в период
стихания клинических симптомов.

Таблица 2

Показатели уровня провоспалительных цитокинов у пациентов с хроническим
тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией, получавших
стандартное лечение, и у людей контрольной группы

№ п/п	Показатели, пг/мл	Исследуемые группы			
		Пациенты 2 группы ($n = 27$)		Здоровые ($n = 20$)	
		1-й день	7-й день	28-й день	
1	ИЛ-1 β	29,07 \pm 6,5*	18,86 \pm 4,2*	10,19 \pm 2,8	5,04 \pm 2,37
2	ИЛ-17	50,23 \pm 2,6*	48,76 \pm 4,0*	41,02 \pm 3,5*	11,1 \pm 1,82
3	ИЛ-10	9,97 \pm 1,04*	6,45 \pm 0,59#	6,32 \pm 0,99	5,31 \pm 0,43
4	ИЛ-4	5,6 \pm 2,58	7,05 \pm 1,25*#	6,44 \pm 0,63*	3,33 \pm 0,07

Примечание: статистическая достоверность: с группой контроля – * – $p < 0,05$; между группами сравнения – # – $p < 0,05$.

При сравнении локального цитокинового статуса двух исследуемых групп были выявлены следующие различия: уровень IL-10 сохранялся высоким с 1 по 7 дни исследования у пациентов, получавших реаферон-ЕС-липид. Уровень IL-4 значительно повышался в разгар заболевания у данных пациентов. Показатели IL-17 достоверно снижались в период реконвалесценции.

Заключение

Выявлены особенности локального иммунитета при хроническом тонзиллите, ассоциированном с ВЭБ-инфекцией, получавших реаферон-ЕС-липид. ВЭБ-инфекция характеризуется высоким уровнем ИЛ-10 в период стихания клинических симптомов, увеличением ИЛ-4 на 7 сутки исследования и значительным снижением ИЛ-17 в период реконвалесценции. Регистрировались признаки активности Th2-клеток (повышение уровня ИЛ-4) с периода угасания клинических симптомов.

Сочетанное применение стандартной схемы лечения и реаферон-ЕС-липид способствовало более существенной положительной динамике показателей цитокинового статуса. В период угасания клинических симптомов у них зафиксирована более высокая продукция противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, ИЛ-4).

Применение иммуномодулятора при хроническом тонзиллите, ассоциированном с ВЭБ-инфекцией, обеспечило снижение ИЛ-17 в период реконвалесценции.

Результаты исследования применения препарата реаферон-ЕС-липид в амбулаторной практике подтвердили целесообразность его использования и эффективность препарата в комплексном лечении хронического тонзиллита, ассоциированного с ВЭБ-инфекцией, что подтверждается полученными клинико-лабораторными данными, в том числе данными цитокинового исследования.

Как показало данное исследование, препарат реаферон-ЕС-липид хорошо переносится пациентами. Побочные эффекты при применении препарата отсутствовали.

Список литературы

1. Эффективность ронколейкина в лечении хронических рецидивирующих инфекций / О.И. Желтова, Н.М. Старостина, М.А. Тихонова, О.Ю. Леплина, Е.Р. Черных, А.А. Останин // Медицинская иммунология. – 2011. – Т. 13, № 3. – С. 227–236.
2. Корнейчук Л.И., Черных Н.П., Воронцова А.В. Реабилитация больных хроническим тонзиллитом под контролем показателей иммунитета // Тихоокеанский медицинский журнал – 2003. – № 3. – С. 47–48.
3. Сочетанная местная терапия при заболеваниях ротоглотки / Н.Л. Кунельская, Г.Н. Изотова, И.А. Лучшева,

И.А. Волошина, М.Е. Артемьева, Ю.С. Кудрявцева // Вестник оториноларингологии. – 2008. – № 2. – С. 62–66.

4. Маркелова Е.В., Костюшко А.В., Красников В.Е. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2008. – № 3. – С. 24–29.

5. Хроническая инфекция вируса Эпштейна-Барр у детей: современные аспекты диагностики и лечения / Э.Н. Симованян, В.Б. Денисенко, А.М. Сарычев, А.В. Григорян // Consilium medicum: 2006. – Приложение Педиатрия № 2. – С. 29–35.

6. Патогенетическое обоснование иммунокорригирующей терапии при инфекционном мононуклеозе у детей / В.В. Фомин, Е.Е. Удимова, Я.Б. Бейкин, Ю.Г. Лагерева // Детские инфекции – 2006. – № 3. – С. 23–28.

7. Эффективность применения анаферона детского в комплексной терапии инфекционного мононуклеоза у детей / И.А. Шваб, К.И. Чуйкова, Л.А. Журавлева, З.В. Сахаровская // Сибирский онкологический журнал. – 2005. – № 13. – С. 32–35.

8. Шестакова И.В., Ющук Н.Д. Современные подходы к лечению Эпштейна-Барр-вирусной инфекции у взрослых // Лечащий врач. – 2011. – № 2. – С. 98–100.

References

1. Zheltova O. I., Starostin N. M., Tikhonov M. A., Lepina O. Yu., Black E.R., Ostanin A.A. Efficiency roncokleikin in treatment of chronic retdiviruyushchy infections // Medical immunology 2011. T. 13, no.3. pp. 227–236.
2. Korneychuk L.I., Black N of the Item, Vorontsov A.V. Rehabilitation of patients by chronic tonsillitis under control of indicators of immunity // The Pacific medical magazine – 2003. no. 3. pp. 47–48.
3. Kunelsky N.L., Izotov G. N., Luchshev I.A., Voloshin I.A., Artemyev M. E., Kudryavtsev Yu.S. Sochetanny local therapy at diseases of a stomatopharynx // The Messenger of otorhinolaryngology 2008. no. 2. pp. 62–66.
4. Markelova E.V., Kostyushko A.V., Krasnikov V.E. Patogeneticoofviolations in system of cytokines at infectious and inflammatory desiasi // Pacific medical journal 2008. no. 3. pp. 24–29.
5. Simovanyan E.N., Denisenko V. B., Sarychev A.M., Grigoryan A.V. A chronic infection of a virus of Epstein-Barre at children: modern aspects of diagnostics and treatment // Consilium medicum: 2006. – Pediatrics no. 2 appendix. pp. 29–35.
6. Fomin V.V., Udimoova E.E., Beykin Ya.B., Lagereva Yu.G. Pathogenetic justification of immunokorrigiruyushchy therapy at infectious mononucleosis at children // Children's infections 2006. no. 3. pp. 23–28.
7. Schwab I.A., Chuykova K.I., Zhuravlyov L.A., Sakharovsky Z.V. Efficiency of application anaferon childrens in complex therapy infectious mononucleosis at children // The Siberian oncological magazine. 2005. no. 13. pp. 32–35.
8. Shestakov I.V., Yushchuk N.D. Modern approaches to Epstein-Barre's treatment – a virus infection at adults // The Attending physician. 2011. no. 2. pp. 98–100.

Рецензенты:

Просекова Е.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологической химии, клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии, ГБОУ ВПО ВГМУ Минздравсоцразвития России, г. Владивосток;

Иванис В.А., д.м.н., профессор кафедры инфекционных болезней, ГБОУ ВПО «ВГМУ» Минздравсоцразвития России, г. Владивосток.

Работа поступила в редакцию 21.03.2013.