

УДК

ОСОБЕННОСТИ ЛОКАЛЬНОГО ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

А.С. Красницкая, А.Н. Полятика

Владивостокский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

Ключевые слова: хронический тонзиллит, вирус Эпштейна–Барра, *Streptococcus pyogenes*, цитокины.

Обследовано в динамике 50 человек (31 женщина и 19 мужчин) в возрасте от 20 до 43 лет с хроническим тонзиллитом в период обострения болезни. В 20 случаях выявлен вирус Эпштейна–Барра, в 30 – *Streptococcus pyogenes*. У пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с вирусом Эпштейна–Барра, зафиксировано увеличение концентрации интерлейкина-10 на 1-е сутки, интерлейкина-4 на 7-е сутки исследования, длительное сохранение высокого уровня интерлейкина-17 и стабильно высокое содержание трансформирующего росткового фактора- β_1 в смешанной слюне. Определение локального уровня интерлейкина-10 рекомендуется включать в алгоритм обследования пациентов с хроническим тонзиллитом для уточнения этиологии заболевания.

Хронический тонзиллит – заболевание, обусловленное персистенцией инфекции, характер течения которого определяется свойствами микроорганизмов, и состоянием иммунной системы [4, 5]. Преобладание локального хронического инфекционного процесса при заболеваниях ЛОР-органов определяет в большинстве случаев значимые изменения показателей системного иммунного статуса и обосновывает актуальность исследования и мониторинга динамики топических иммунных маркеров местного воспаления [3].

В литературе дискутируются вопросы об информативности определения уровня про- и противовоспалительных цитокинов для оценки функциональной активности иммунокомпетентных клеток и особенностей инфекционного процесса при хроническом тонзиллите различной этиологии.

Цель исследования: анализ диагностической информативности и характеристика особенностей локального цитокинового статуса у пациентов с хроническим тонзиллитом различной этиологии.

Материал и методы. В исследование включено 50 человек (31 женщина и 19 мужчин) в возрасте от 20 до 43 лет (в среднем – $34,2 \pm 0,8$ года) с обострением хронического тонзиллита, верифицированном на основании жалоб, анамнестических данных, клинической картины и исследования материала из зева на микрофлору и чувствительность к антибиотикам. Обследование проводилось в динамике: в период разгара заболевания (1-й день обострения), угасания клинических симптомов (7-й день), и в период реконвалесценции (28-й день).

Для выявления ДНК вируса Эпштейна–Барра (ВЭБ) в смешанной слюне использовали метод полимеразной цепной реакции и тест-системы ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). В сыворотке крови методом

иммуноферментного анализа определяли антитела различных классов: EBV-VCA-IgM и EBV-EA-IgG (к капсидному белку ВЭБ), EBV-NA-IgG (к ядерному антигену ВЭБ). Определение уровня цитокинов в смешанной слюне проводили с помощью специфических реактивов фирмы R&D Diagnostic Inc. (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа: анализировали интерлейкины (IL) 4, 10, 17 и трансформирующий ростковый фактор бета-1 (TGF- β_1). Референсные интервалы исследуемых показателей определялись у 15 практически здоровых добровольцев (контрольная группа), сопоставимых по полу (9 женщин и 6 мужчин) и возрасту (в среднем – $31,4 \pm 1,2$ года).

Статистическую обработку полученных данных проводили с применением непараметрических методов (критерий Манна–Уитни) и корреляционного анализа (критерий Пирсона). Результаты представляли в виде медианы, достоверность разности средних значений оценивали по критерию Стьюдента.

Результаты исследования. Среди пациентов с хроническим тонзиллитом в 20 случаях диагностирована ВЭБ-инфекция (1-я группа), в 30 случаях выделен *Streptococcus pyogenes* (2-я группа). Антитела класса иммуноглобулина М к капсидному антигену ВЭБ были выявлены у 7, антитела класса иммуноглобулина G к раннему ядерному антигену ВЭБ – у 13 пациентов с тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией.

При анализе динамики локального цитокинового профиля у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией, установлено увеличение концентрации провоспалительного IL-17 в слюне, на 7-е сутки его уровень незначительно снижался, оставаясь выше нормы, а через 28 дней повышался в 2 раза по сравнению с исходным и контрольным. Выявлено раннее повышение содержания противовоспалительного IL-10 в 1-е сутки исследования с последующим его снижением до нормальных величин к 28 дню. Уровень IL-4 исходно не отличался от показателей контрольной группы, значительно повышаясь на 7-е сутки и снижаясь до исходного в период реконвалесценции. Динамика содержания TGF- β_1 у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией, иллюстрировала высокие показатели в период разгара клинических симптомов, незначительное снижение в период реконвалесценции и превышение показателей контрольной группы в течении всего периода обострения. Таким образом, у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-

Таблица 1

Уровень цитокинов в смешанной слюне при хроническом тонзиллите, ассоциированном с ВЭБ-инфекцией (1-я группа)

Цитокин	Концентрация в смешанной слюне, пг/мл ¹							
	1-й день		7-й день		28-й день		Контроль	
	Me	Q1-Q2	Me	Q1-Q2	Me	Q1-Q2	Me	Q1-Q2
IL-4	2,7 ³	2,7–8,5	14,5 ^{2,3}	2,7–20,2	2,6 ³	2,5–2,7	2,0	2,7–6,2
IL-10	8,7 ^{2,3}	6,1–15,3	6,2	6,1–6,4	6,2	6,1–6,4	6,0	5,5–6,7
IL-17	48,5 ^{2,3}	12,9–90,4	45,4 ^{2,3}	17,6–165,2	74,5 ^{2,3}	7,0–148,3	37,2	8,2–48,1
TGF-β ₁	6,3 ^{2,3}	3,0–12,9	8,5 ^{2,3}	8,0–8,9	7,5 ^{2,3}	7,0–18,9	3,9	3,1–4,6

¹ Me – медиана, Q1-Q2 – интерквартильный размах.

² Разница с контролем статистически значима.

³ Разница со 2-й группой статистически значима.

Таблица 2

Уровень цитокинов в смешанной слюне при хроническом тонзиллите, ассоциированном с *S. pyogenes* (2-я группа)

Цитокин	Концентрация в смешанной слюне, пг/мл ¹							
	1-й день		7-й день		28-й день		Контроль	
	Me	Q1-Q2	Me	Q1-Q2	Me	Q1-Q2	Me	Q1-Q2
IL-4	4,2 ^{2,3}	2,7–15,9	8,5 ^{2,3}	2,7–8,5	5,6 ³	2,7–5,6	2,0	2,7–6,2
IL-10	6,4 ³	6,1–6,7	6,3	6,2–6,4	6,2	5,8–7,1	6,0	5,5–6,7
IL-17	79,5 ^{2,3}	14,2–138,3	53,9 ^{2,3}	16,8–135,3	51,2 ³	18,2–106,7	37,2	8,2–48,1
TGF-β ₁	10,7 ^{2,3}	4,6–14,3	4,6 ³	3,1–13,7	4,6 ³	3,1–13,7	3,9	3,1–4,6

¹ Me – медиана, Q1-Q2 – интерквартильный размах.

² Разница с контролем статистически значима.

³ Разница с 1-й группой статистически значима.

инфекцией, в дебюте заболевания были значительно повышены уровни IL-10, IL-17 и TGF-β₁, на 7-е сутки возростала концентрация IL-4 при сохранении высоких показателей IL-17 и TGF-β₁ (табл. 1).

У пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным со *S. pyogenes* концентрация IL-17 в смешанной слюне была особенно высокой в дебюте заболевания с постепенным снижением с 7-х по 28-е сутки. На протяжении всего периода мониторинга его значения превышали показатели контрольной группы. Содержание IL-10 оставалось в пределах нормы на протяжении всего исследования. Уровень IL-4 был исходно повышен, повышался в период разгара болезни и снижался к 28-м суткам. Также отмечено увеличение концентрации TGF-β₁ в 1-е сутки исследования, со снижением ее на 7-е и 28-е сутки, но с превышением данных контроля. Таким образом, в период разгара заболевания при выраженных клинических проявлениях у лиц с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с пиогенной микрофлорой, существенно увеличивались уровни IL-17, IL-4 и TGF-β₁ (табл. 2).

Сравнительный анализ локального цитокинового профиля показал различия в динамике содержания IL-4, IL-17, TGF-β₁ в зависимости от этиологии хронического тонзиллита: при бактериальной инфекции их уровень был в 1,5 раза выше, чем при вирусной, к 28-му дню нормализовались практически все показатели, за исключением IL-17. Он сохранял высокую

концентрацию, особенно при ВЭБ-ассоциированном тонзиллите. Уровень IL-10 при хроническом тонзиллите вирусной природы был повышен в дебюте болезни, а в период разгара клинических симптомов регистрировались высокие показатели IL-4 и TGF-β₁, к 28-м суткам в смешанной слюне снижалось до нормы содержание IL-4 и IL-10.

Обсуждение полученных данных. Особенности локального иммунитета при хроническом тонзиллите, ассоциированном с ВЭБ-инфекцией характеризовались увеличением содержания IL-10 на 1-е сутки. Его уровень, превышавший 7 пг/мл был сопряжен с ВЭБ-инфекцией ($\chi^2=4,27$). IL-10 вырабатывается Т-хелперами 2-го типа, а также моноцитами и цитотоксическими Т-лимфоцитами. Основной эффект этого цитокина заключается в подавлении синтеза цитокинов Т-хелперами 1-го типа и в снижении активности макрофагов, в том числе в отношении продукции воспалительных цитокинов. IL-10 подавляет экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости II класса, пролиферацию Т-клеток, вызванную митогенами, а также развитие гиперчувствительности замедленного типа. Одновременно он может стимулировать синтез иммуноглобулина Е. В результате IL-10 способствует развитию гуморальной составляющей иммунного ответа. ДНК и аминокислотные последовательности человеческого IL-10 высокомолекулярны с 1-м фактором антиген-распознающего рецептора В-клеток – белком,

который кодируется геномом ВЭБ, и который имитирует многие клеточные биологические функции этого цитокина, и, следовательно, может играть роль во взаимодействии «хозяин-вирус» [2, 7]. Также выявлено увеличение (более 8,5 пг/мл) концентрации ИЛ-4 на 7-е сутки исследования, и стабильное повышение уровня TGF- β в смешанной слюне у пациентов с ВЭБ-инфекцией.

Высокий уровень ИЛ-17 при хроническом тонзиллите, ассоциированном с ВЭБ и *S. pyogenes*, иллюстрирует персистенцию воспаления. По данным С.А. Кетлинского [2], ИЛ-17 является мощным регулятором нейтрофилов. Основными его продуцентами служат Т-клетки CD4⁺/CD8⁺. Преимущественно провоспалительная и гемопоетическая активность ИЛ-17 являются следствием способности этих клеток стимулировать продукцию цитокинов и хемокинов. ИЛ-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, 6]. Т-хелперы-17 вовлекаются в иммунный ответ при бактериальном заражении, а также патогенетически связаны с развитием хронических воспалительных заболеваний.

Таким образом, хронический тонзиллит, ассоциированный с ВЭБ-инфекцией, характеризуется увеличением содержания в смешанной слюне ИЛ-10 на 1-е сутки и ИЛ-4 – на 7-е сутки исследования, длительным сохранением высокого уровня ИЛ-17 и стабильно повышенным содержанием TGF- β ₁. Определение локального уровня ИЛ-10 рекомендуется включить в алгоритм обследования пациентов с хроническим тонзиллитом для уточнения этиологии заболевания.

Литература

1. Горенко Т.В., Калинина Н.М., Дрыгина Л.Б. Современные представления об иммунопатогенезе инфекции, вызванной

- вирусом Эпштейна-Барр // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1, №2. С.121–130.
2. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с.
 3. 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.
 4. Плужников М.С., Левин М.Я., Атнашева Р.Р. Показатели местного иммунитета ротоглотки при хроническом декомпенсированном тонзиллите в сочетании с разными формами фарингитов // Рос. оториноларингол. 2003. № 2. С. 176–180.
 5. Смирнов И.Е., Мещерякова К.Л., Якушенкова А.П. Оценка изменений показателей гуморального иммунитета у детей с хронической патологией лимфоидного кольца глотки // Российская ринология. 2008. № 2. С. 64.
 6. Balandraud N., Roudier J., Roudier C. Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis // Autoimmunity Rev. 2004. Vol.3. P. 362–367.
 7. Feng W.H., Cohen J.I., Fischer S., Li L. et al. Reactivation of latent Epstein-Barr virus by methotrexate: a potential contributor to metotrexate-associated lymphomas // J. Natl. Cancer Inst. 2004. Vol. 96. P. 1691–1702.

Поступила в редакцию 10.01.2012.

Особенности локального цитокинового статуса у пациентов с хроническим тонзиллитом различной этиологии

А.С. Красницкая, А.Н. Полятика

Владивостокский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

Обследовано в динамике 50 человек (31 женщина и 19 мужчин) в возрасте от 20 до 43 лет с хроническим тонзиллитом в период обострения болезни. В 20 случаях выявлен вирус Эпштейна-Барра, в 30 – *Streptococcus pyogenes*. У пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с вирусом Эпштейна-Барра, зафиксировано увеличение концентрации интерлейкина-10 на 1-е сутки, интерлейкина-4 на 7-е сутки исследования, длительное сохранение высокого уровня интерлейкина-17 и стабильно высокое содержание трансформирующего росткового фактора- β ₁ в смешанной слюне. Определение локального уровня интерлейкина-10 рекомендуется включать в алгоритм обследования пациентов с хроническим тонзиллитом для уточнения этиологии заболевания.

Ключевые слова: хронический тонзиллит, вирус Эпштейна-Барра, *Streptococcus pyogenes*, цитокины.

Pacific Medical Journal, 2013, No. 1, p. 00–00.