

Цитокины и оксид азота при хронической воспалительной патологии лимфоидной ткани глотки у детей

И.Е. Смирнов², А.Г. Кучеренко², К.Л. Мещеряков¹, А.П. Якушенкова¹, Е.А. Светлова¹

¹ФГУ «ЦКБ с поликлиникой» УД Президента РФ,

²Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

В условиях стационара было комплексно обследовано 136 детей, из них 116 детей (46% девочек и 78% мальчиков) в возрасте от 2 до 15 лет с хронической патологией лимфоидной ткани глотки в стадии ремиссии основного заболевания. При этом в возрасте от 2 до 6 лет наблюдалось 65% детей. Длительность заболевания составила от 2 до 11 лет (в среднем 6,2–1,3 года). В выборку были включены дети без проявлений атопии и хронических соматических заболеваний. Референтную группу составили 20 условно здоровых детей того же возраста.

Установлено, что при хронической воспалительной патологии лимфоидной ткани у детей существенно изменяется системная и локальная продукция цитокинов и оксида азота. Увеличение образования цитокинов и дисбаланс их соотношений имеют патогенетическое значение при формировании воспаления и гипертрофии лимфоидной ткани у детей.

Ключевые слова: цитокины, оксид азота, хроническая воспалительная патология лимфоидной ткани глотки у детей.

136 children have been examined using various diagnostic possibilities. Among these patients there were 116 patients (46% of girls and 78% of boys) aged 2–15 years with chronic pathology of the pharynx lymphoid tissue at the remission stage. It should be noted that 65% of children were 2–6 years old. Disease duration was from 2 to 11 years (average 6.2–1.3 years). Children having no atopy or chronic somatic disease manifestations were included into the study. A reference group consisted of 20 practically healthy children of the same age.

It has been found out that in children with chronic inflammatory pathology of lymphoid tissue a systemic and topical cytokine and nitrogen oxide production has changed considerably. Increased cytokine production and imbalance in their ratio cause a pathologic effect at the formation of inflammatory and hypertrophic processes in lymphoid tissue in children.

Key words: cytokines, nitrogen oxide, chronic inflammation in the pharynx lymphoid tissue in children.

Различные формы хронической воспалительной патологии лимфоидной ткани глотки у детей занимают первое место по распространенности в детской оториноларингологии. Причем лимфоидная ткань глотки (кольцо Пирогова-Вальдейера) рассматривается как важнейший периферический орган иммунной системы, активно участвующий в реакциях клеточного и гуморального иммунитета. В небных миндалинах В-лимфоциты активно продуцируют димерную форму секреторного иммуноглобулина А (sIgA), которая непосредственно участвует в защите слизистых оболочек, а также IgM и IgG; Т-лимфоциты обладают цитотоксическим свойством [2, 10, 12]. Площадь небных миндалин с учетом площади всех развернутых крипт составляет около 300 см², в то время как площадь глотки – 45 см². В криптах небных миндалин начинает реализовываться их защитная функция благодаря существованию так называемого лимфоэпителиального симбиоза: лимфоцит выходит из небной миндалины через эпителий крипты в ее просвет, где верифицирует попадающий в организм антиген и снова возвращается в миндалину, после чего в течение приблизительно 10–14 дней формируются клетки иммунной памяти (первичный иммунный ответ). При повторном попадании в организм того же антигена за счет уже образовавшихся IgA и IgG реализуется мощный и быстрый вторичный иммунный ответ [1, 12].

В дошкольном возрасте у 45% детей выявляют гипертрофию аденоидных вегетаций. В 48% случаев аденоидные вегетации сопровождаются хроническим воспалением, рецидивирование которого способству-

ет формированию патологии дыхательных путей [1, 2]. Воспалительные формы патологии глоточной миндалины лидируют по частоте среди общего числа детей, пролеченных в ЛОР-отделениях. Доля детей с хроническими адено tonsиллитами в популяции колеблется от 20 до 50%. В группе часто болеющих детей этот показатель составляет от 37 до 70% [3, 4]. Хронические очаги воспаления в носоглотке существенно изменяют иммунобиологическую реактивность детского организма [1, 12].

Очевидно, что значительная распространенность среди детей хронических форм воспалительной патологии лимфоидной ткани глотки и их осложнения представляют собой не только медицинскую, но и социальную проблему. Актуальность этих вопросов определяется также недостаточной разработкой тактики лечения хронического воспаления лимфоидной ткани глотки у детей [7]. Несмотря на доказанное значение лимфоэпиточного кольца в обеспечении иммунобиологической защиты растущего организма, аденотомия и тонзиллотомия остаются наиболее распространенными хирургическими операциями в детской оториноларингологии. Вместе с тем общепризнано, что хирургия ЛОР-органов у детей должна быть щадящей и функциональной, что в последние годы способствовало внедрению в практику нового направления – функциональной эндоскопической и микроскопической хирургии [1, 4]. В основу этих методик положены принципы щадящего отношения к лимфоидным образованиям глотки за счет визуального контроля хода операции, что позволило существенно

повысить эффективность и безопасность лечебных манипуляций у детей.

Наряду с этим нужно учитывать, что исследования последних лет свидетельствуют о патогенетическом значении цитокинов и оксида азота (NO) в формировании воспалительного процесса при различных формах патологии [6, 8]. Однако динамика системной и локальной продукции цитокинов и оксида азота и их диагностическое значение при хронической патологии лимфоглоточного кольца у детей изучены еще недостаточно, что определило цель данной работы.

Цель работы – установить закономерности изменений эндогенной продукции цитокинов и оксида азота для оценки активности воспалительного процесса и оптимизации тактики лечения детей с хроническими формами патологии лимфоидной ткани глотки.

Материалы и методы

В условиях стационара было комплексно обследовано 136 детей, из них 116 детей (46% девочек и 54% мальчиков) в возрасте от 2 до 15 лет с хронической патологией лимфоидной ткани глотки в стадии ремиссии основного заболевания. При этом в возрасте от 2 до 6 лет наблюдалось 65% детей. Длительность заболевания составила от 2 до 11 лет (в среднем $6,2 \pm 1,3$ года). В выборку были включены дети, не имевшие проявлений атопии и хронических соматических заболеваний. Референтную группу составили 20 условно здоровых детей того же возраста.

По формам патологии лимфоглоточного кольца дети были распределены следующим образом: аденоиды II–III и III степени – 85 больных (73%), рецидив аденоидов – 8 (7%), гипертрофия небных миндалин II–III степени в сочетании с аденоидами II–III степени – 18 (16%), хронический декомпенсированный тонзиллит в сочетании с аденоидами II–III степени – 5 (4%). При этом клинически нами были выделены следующие признаки хронического тонзиллита: рубцово-измененные миндалины, кисты в миндалинах, спайки с передними дужками, гиперемия передней дужки, утолщение передней и задней дужек, увеличение регионарных лимфатических узлов.

Было проведено комплексное клиническое и оториноларингологическое обследование больных детей (передняя риноскопия и/или эндоскопическая риноскопия, задняя риноскопия, эндоскопический осмотр носоглотки, фарингоскопия, отоскопия), а также рентгенологическое исследование носоглотки. Для уточнения диагноза применяли компьютерную томографию, аудиометрию, тимпанометрию.

Основными показаниями к оперативному лечению больных были: неэффективность консервативной терапии, частые респираторные заболевания, увеличение глоточной миндалины, приводящее к затруднению носового дыхания, рецидивирующим или экссудативным средним отитам, частым и затяжным ринитам, осложненным риносинуситами.

Всем больным детям было проведено оперативное лечение под общей анестезией с использованием эндоскопической техники фирмы Karl Storz (Германия). Эндоскопическая аденотомия была произведена всем больным, при этом 85 детям (73%) – аденотомия, 8 (7%) – реаденотомия, 18 (16%) – эндоскопическая аденотомия с

тонзиллотомией, 5 (4%) – эндоскопическая аденотомия с тонзиллэктомией.

Комплекс лабораторных исследований включал общеклинические исследования крови и мочи, анализ параметров гемостаза, а также определение содержания интерлейкинов (ИЛ): ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и фактора некроза опухолей α (ФНО- α) в сыворотке крови и в гомогенатах лимфоидной ткани больных детей. Концентрации указанных цитокинов определяли методом твердофазного энзимсвязанного иммуносорбентного анализа ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) на анализаторе ELISA Mat 3000 (DRG, США) с использованием коммерческих наборов.

Содержание оксида азота (NO) в сыворотке крови и в гомогенатах ткани лимфоглоточного кольца определяли до и после операции по суммарному содержанию его стабильных метаболитов – ионов NO-2 и NO-3 аналитическим методом с помощью индикаторного набора реагентов и спектрофотометра DU-50 (Beckman, США) при длине волны 520 нм [11]. Для получения сопоставимых результатов локальной продукции NO и цитокинов данные пересчитывали на 1 мг белка. У 20 больных анализ содержания цитокинов и эндогенного NO в сыворотке крови проводили дважды: в день поступления и через 10–14 дней после оперативного вмешательства.

Образцы лимфоидной ткани у детей референтной группы получали при диагностическом исследовании, в ходе которого проводили биопсию лимфоидной ткани глотки в интактной области без признаков гиперплазии и воспаления.

Гистологическое исследование биоптатов было проведено после окрашивания препаратов гематоксилином и эозином по общепринятой методике, после чего проводилась световая микроскопия.

Все полученные данные обработаны статистически с использованием программного пакета Statistica 5.5 (StarSoft Inc.). Достоверность различий оценивалась с помощью *t*-критерия Стьюдента. Различия сравниваемых показателей считались достоверными при $p < 0,05$. Для выяснения зависимостей между изучаемыми параметрами использовался корреляционный анализ [5]. Все исследования проводились при информированном согласии детей и их родителей.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что у 71% больных глоточные миндалины представляли собой гипертрофированную лимфоидную ткань с формированием крупных фолликулов с широкими реактивными центрами, характерными для хронического активного воспаления. При этом у 42% больных наблюдалась инфильтрация эпителиального пласта лимфоцитами и сегментоядерными лейкоцитами. Воспалительные изменения гипертрофированной лимфоидной ткани были выявлены у 72% обследованных детей в возрасте от 3 до 6 лет и у 28% больных 7–12 лет. У 16% детей школьного возраста отмечались склеротические изменения в строме глоточной миндалины.

Вместе с тем у 29% обследованных больных была обнаружена зрелоклеточная лимфаденоидная ткань без признаков воспаления. При этом гиперплазия лимфоидных фолликулов и межфолликулярной лимфоидной

Изменения содержания цитокинов (в пг/мл) и оксида азота (в мкмоль/л) в сыворотке крови у детей с хронической патологией лимфоидной ткани глотки ($M \pm m$)

Изученный параметр	Группы больных детей		$p_{\text{до-после}}$	Референтная группа
	до операции	после операции		
ИЛ-6	3,98±0,56**	3,75±0,65**	>0,05	7,91±0,8
ИЛ-8	358,28±17,20**	247,02±28,39**	<0,01	14,14±2,43
ИЛ-10	2,13±0,21**	2,06±0,33**	>0,05	13,86±0,7
ФНО- α	4,54±0,34*	2,24±0,36	<0,05	3,05±0,36
Оксид азота	48,64±1,74**	38,98±2,81**	<0,05	24,09±3,45

Примечание. Звездочки – уровни значимости различий (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) по сравнению с референтной группой.

ткани миндалин была выявлена у 79% детей в возрасте от 3 до 6 лет и у 21% больных 7–12 лет.

В обеих возрастных группах отмечалось значительное преобладание клеточных проявлений воспалительного процесса над гипертрофией лимфоидной ткани ($p < 0,05$). Причем если у детей дошкольного возраста соотношение гипертрофия/воспаление составляло 1:2, то у младших школьников оно было представлено уже как 1:3, что свидетельствует о хронизации воспалительных изменений лимфоидной ткани.

Анализ динамики эндогенной продукции цитокинов и оксида азота при указанных формах хронического воспаления лимфоидной ткани у детей свидетельствует, что воспалительный процесс сопровождался существенным повышением содержания цитокинов и метаболитов оксида азота в сыворотке крови по сравнению с данными у детей референтной группы (табл. 1).

При этом наиболее значительное увеличение эндогенной продукции провоспалительных цитокинов (обладающих способностью инициировать и стимулировать воспалительные реакции – ИЛ-8, ФНО- α), а также метаболитов оксида азота было отмечено прежде всего у больных с длительным течением воспаления.

Было установлено повышение уровня ИЛ-8 в крови в 25 раз по сравнению с таковым в референтной группе. При индивидуальном анализе у всех больных с хронической патологией лимфоидной ткани глотки уровень ИЛ-8 в сыворотке крови был существенно повышен по сравнению с контролем. Концентрация ФНО- α в крови превышала в 1,5 раза его уровни у детей референтной группы. Такое увеличение содержания провоспалительных цитокинов в крови было отмечено только при длительном течении воспалительного процесса. При этом тесные положительные корреляции между уровнем провоспалительного ИЛ-8, длительностью заболевания и выраженностью воспалительных изменений при эндоскопии у больных детей указывают на патогенетическую значимость ИЛ-8 в реализации воспалительного процесса.

Содержание провоспалительного ИЛ-6 и противовоспалительного ИЛ-10 в крови больных детей было снижено до и после операции (см. табл. 1). Более выраженное снижение концентраций ИЛ-10 было обнаружено у детей с частыми ОРВИ и длительностью заболевания более 2 лет.

Наряду с этим было установлено существенное повышение продукции NO при хронической патологии лимфоидной ткани у детей. Содержание метаболитов оксида азота в сыворотке крови у этих больных было увеличено в 2 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$) (см. табл. 1). Выявленные изменения свидетельствуют, что продукция NO зависит от активности воспаления. При этом повышение содержания NO обусловлено рядом факторов, среди которых определенное значение имеет увеличение активности индуцибельной NO-синтазы (iNOS) при бактериальном инфицировании в связи с привлечением активных макрофагов в очаг воспаления [9]. Было выявлено также, что провоспалительные интерлейкины стимулируют продукцию iNOS, что способствует поддержанию высокого уровня NO в течение длительного времени [10, 12]. Это позво-

ляет обеспечить ликвидацию внутриклеточных патогенов бактерицидным действием высоких концентраций NO путем образования пероксинитрита и стимуляцией апоптоза [6,9].

Проведенные нами исследования показали также, что через 2 нед после эндоскопической операции у больных содержание в крови ИЛ-8, NO снижалось, но не достигало референтных уровней, хотя содержание ФНО- α в сыворотке крови нормализовалось.

Анализ динамики про- и противовоспалительных цитокинов выявил их положительный ответ на проведенное хирургическое лечение. Это лишь подтверждает необходимость дальнейшего диспансерного наблюдения ЛОР-врачом и проведения консервативного лечения.

При катанестическом наблюдении детей в течение 2 лет отмечалось улучшение самочувствия, появлялся аппетит, восстанавливалось носовое дыхание, отсутствовало отделяемое в полости носа и задней стенки глотки. Эндоскопический осмотр полости носа и носоглотки у больных после аденотомии не выявил рецидива гипертрофии глоточной миндалины. При этом частота рецидива воспалительных поражений лимфоидной ткани после оперативного лечения наблюдавшихся нами детей уменьшилась до 1–2 раз в год.

Учитывая, что формирование воспаления и гипертрофия лимфоидной ткани глоточного кольца могут оказывать различное влияние на продукцию цитокинов и оксида азота у детей, нами было проведено исследование локальной продукции этих биологически активных соединений в гомогенатах лимфоидной ткани.

Анализ концентраций провоспалительных цитокинов в лимфоидной ткани свидетельствует, что если локальная продукция ИЛ-8 превышала контрольные значения в 1,6 раза, ФНО- α – в 1,2 раза, то ИЛ-6 – в 3 раза (табл. 2). Содержание ИЛ-10 в лимфоидной ткани было повышено в 1,4 раза.

Эти изменения продукции цитокинов лимфоидной тканью позволяют полагать, что при воспалении они действуют в микроокружении, причем их синтез активируется импульсно, зависит от активности воспаления, а биологическая активность проявляется оперативно по сигналу в том месте, где нужно, и не дольше, чем нужно [6, 8].

При индивидуальном анализе у 58% больных было повышено содержание ИЛ-8 в лимфоидной ткани. Причем

Таблица 2

Изменения локальной продукции цитокинов (в пг/мл/мг белка) и оксида азота (в мкМоль/л/мг белка) лимфоидной ткани больных детей с хроническими воспалительными поражениями глотки

Изученный параметр	Больные с хроническими воспалительными поражениями глотки	Референтная группа
ИЛ-8	183,09±11,25*	116,07±2,78
ИЛ-6	21,30±1,19***	7,21±0,69
ИЛ-10	26,16±1,6*	18,00±1,63
ФНО-α	23,89±1,53*	19,19±1,35
Оксид азота	30,20±0,99*	22,19±1,62

Примечание. Звездочки — уровни значимости различий (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$) по сравнению с референтной группой.

у этих детей имелись выраженные признаки гипертрофии и воспаления. У 18% детей концентрация ИЛ-8 не отличалась от таковой в референтной группе. Нормальные значения ИЛ-8 в лимфоидной ткани свидетельствовали о преимущественной ее гиперплазии. У 24% детей определялись низкие показатели ИЛ-8. При сопоставлении с клиническими данными низкая способность клеток продуцировать ИЛ-8 у этих больных могла быть обусловлена частыми ОРВИ и проводимой перед операцией антибактериальной и противовоспалительной терапией [10].

Наряду с этим у 90% больных было установлено повышение локальной продукции ИЛ-6. Увеличение уровней ИЛ-6 подтверждает его важную роль в индукции локального иммунного ответа. У 8% детей содержание ИЛ-6 в лимфоидной ткани соответствовало уровням у детей референтной группы и только у 2% больных было снижено.

Повышенное содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-8 и ИЛ-6 в гомогенате лимфоидной ткани у больных детей свидетельствует об их участии в реализации воспаления и может служить объективным критерием его активности, что позволяет считать ИЛ-6 и ИЛ-8 биомаркерами воспалительных изменений при хронической патологии лимфоглотоочного кольца.

Локальная продукция противовоспалительного ИЛ-10 была повышена у 53% больных, у 31% детей была в пределах контрольных значений, а у 16% — снижена. Сравнительный анализ показал, что, несмотря на низкую концентрацию ИЛ-10 в сыворотке крови, у 84% детей его локальная продукция была повышена или не отличалась от контроля, что свидетельствует о сохранности резервных возможностей организма у большинства детей. Снижение локальной продукции ИЛ-10 свидетельствует о снижении местной противомикробной защиты у части детей с хронической патологией лимфоглотоочного кольца. Низкие значения ИЛ-10 в ткани были выявлены преимущественно у часто и длительно болеющих детей с рецидивом аденоидов II–III степени.

В целом по группе у детей с хронической патологией лимфоглотоочного кольца средние концентрации оксида азота в лимфоидной ткани были повышены в 1,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичным показателем в референтной группе (см. табл. 2). Повышение локальной продукции оксида азота при инфекционном воспалении

у детей является свидетельством того, что NO — мощный фактор антипатогенной активности клеток, участвующих в обеспечении резистентности организма к развитию инфекций. Возрастание содержания метаболитов оксида азота у обследованных детей также можно связать с экспрессией iNOS в ответ на влияние эндотоксинов микроорганизмов непосредственно в лимфоидной ткани. Образованию оксида азота в этих условиях способствуют также изменения продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α), определение которых позволяет судить об адекватности иммунного ответа при хроническом поражении лимфоидной ткани глотки у детей.

Проведенные нами исследования свидетельствуют, что при хронической воспалительной патологии лимфоидной ткани у детей существенно изменяется локальная продукция цитокинов и оксида азота. Увеличение секреции провоспалительных цитокинов или дисбаланс соотношения про- и противовоспалительных факторов может иметь важное значение в патогенезе поврежденной лимфоидной ткани и ее гипертрофии.

Таким образом, результаты проведенных исследований указывают на участие цитокинов и оксида азота в механизмах формирования хронической воспалительной патологии лимфоидной ткани глотки у детей. Установленные закономерности изменений продукции оксида азота и цитокинов могут использоваться для оценки эффективности лечения хронической патологии лимфоидной ткани глотки у детей и разработки показаний к щадящему оперативному лечению. Однако сохранение высоких уровней продукции оксида азота и ИЛ-8 после таких операций, как аденотомия и тонзиллотомия, свидетельствует о сохраняющейся активности воспаления и указывает на необходимость организации диспансерного наблюдения за этими детьми с назначением репаративной терапии.

Литература

1. Богомильский М.Р. Детская оториноларингология / М. Р. Богомильский, В. Р. Чистякова. — М.: ГЭОТАР-МЕД., 2001. — 431 с.
2. Быкова В.П. Аденоиды как индуктивный орган муко-назального иммунитета верхних дыхательных путей // Рос. ринология. — 2005. — № 2. — С. 175–176.
3. Гаращенко Т.И. Эндоскопическая хирургия носоглотки / Т.И. Гаращенко, О.А. Денисова // Рос. ринология. — 2005. — № 2. — С. 179–180.
4. Заболевания носа и околоносовых пазух. Эндомикрохирургия / Г.З. Пискунов, С.З. Пискунов, В.С. Козлов и др. — М., 2003. — 203 с.
5. Платонов А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы / А.Е. Платонов. — М.: изд-во РАМН, 2000. — 50 с.
6. Смирнов И.Е. Биологически активные соединения и патологический процесс. — М., 2003. — 54 с.
7. Якушенкова А.П., Светлова Е.А. Показания к эндоскопической аденотомии // Рос. ринология. — 2003. — № 2. — С. 65.

И др. авторы.