

©М. І. Герасимюк

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського"

СТАН СУБПОПУЛЯЦІЙНОГО СКЛАДУ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ ТА ЙОГО СПІВВІДНОШЕННЯ ІЗ АПОПТОЗОМ І НЕКРОЗОМ ДО І ПІСЛЯ РІЗНИХ МЕТОДІВ ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОГО ТОНЗИЛІТУ

Резюме. На даний час проблема хронічного тонзиліту в її клінічному аспекті змістилася у бік щадного відношення до лімфо-епітеліальних структур рото- і носоглотки. Разом з тим, тонзилектомія продовжує залишатися однією з найпоширеніших методик, які виконуються оториноларингологами. Це диктує необхідність подальшого пошуку і розробки критеріїв, які б допомагали диференціювати процес трансформації мигдаликів з органа, що несе корисні функції від мигдаликів як осередку інфекції і тим самим сприяти оптимальному вибору тактики лікування.

Мета дослідження – провести аналіз зміни субпопуляційного складу лімфоцитів до і після різних методів лікування хронічного тонзиліту в зіставленні з їх апоптозом та некрозом.

Матеріали і методи. Обстеження проведено у хворих на хронічний тонзиліт до і після оперативного та консервативного лікування. Визначення субпопуляційного складу, а також стан апоптозу та некрозу лімфоцитів крові та їх співвідношення проводили на проточному цитофлюориметрі "Westen Culter EpiX XL" (USA).

Результати досліджень та їх обговорення. Результати проведеного дослідження свідчать, що для хронічного тонзиліту є характерним різного ступеня зниження рівня окремих субпопуляцій лімфоцитів. Особливо для CD3+, CD4+ і CD8+ лімфоцитів, причому, більш інтенсивне їх зниження відмічалось у хворих, яким було показане оперативне втручання порівняно з пацієнтами, які підлягали консервативному лікуванню. Як хірургічне, так і консервативне лікування сприяли частковому відновленню відносної кількості досліджуваних субпопуляцій лімфоцитів. Отримані дані свідчать про те, що більш інтенсивно йде відновлення рівня субпопуляцій лімфоцитів після хірургічного лікування. Однак через нижчі початкові дані рівень такого відновлення продовжував залишатися нижчим від показників, які були зареєстровані після консервативного лікування. Паралельно до змін субпопуляційного складу, були відмічені також зміни рівня апоптозу і некрозу лімфоцитів крові та їх співвідношення. У хворих, яким було показане хірургічне втручання, дані співвідношення значно перевищувало таке, що реєструвалося у пацієнтів, яким було показане консервативне лікування. Після проведених методів лікування рівень співвідношення апоптозу і некрозу в обох групах знижувався і наближався до вихідних даних, хоча абсолютний рівень апоптозу продовжував залишатися достовірно вищим від контролю. Більш інтенсивне зниження відбувалося знову ж таки після хірургічного видалення мигдаликів.

Висновки. Хронічний тонзиліт супроводжується зниженням рівня субпопуляцій CD3+, CD4+ і CD8+ лімфоцитів крові з одночасним зростанням рівня апоптозу і його співвідношення з некрозом, ступінь яких відображає глибину патологічного процесу, що дозволяє використовувати дані показники у якості додаткових маркерів для визначення тактики лікування і контролю за його ефективністю.

Ключові слова: хронічний тонзиліт; субпопуляції; лімфоцити; апоптоз; некроз.

ВСТУП Як відомо, хронічний тонзиліт супроводжується пригніченням неспецифічних факторів природної резистентності організму з порушенням як гуморальної, так і клітинної ланок імунітету [1, 3, 15].

На даний час завдяки успіхам у вирішенні теоретичних основ імунофізіології мигдаликів проблема хронічного тонзиліту в її клінічному аспекті змістилася в бік щадного відношення до лімфо-епітеліальних структур рото- і носоглотки [2, 4]. Разом з тим, тонзилектомія продовжує залишатися однією з найпоширеніших методик, які виконуються оториноларингологами [6, 9, 10, 13]. Це диктує необхідність подальшого пошуку і розробки критеріїв, які б допомагали диференціювати процес трансформації мигдаликів з органа, що несе корисні функції від мигдаликів як осередку інфекції і тим самим сприяти оптимальному вибору тактики лікування [5, 7].

Такими тестами може бути визначення рівнів різних субпопуляцій лімфоцитів та ступені їх апоптозу і некрозу, а також співвідношення між ними [8, 11, 12, 14].

Мета дослідження – провести аналіз зміни субпопуляційного складу лімфоцитів до і після різних методів лікування хронічного тонзиліту в зіставленні з їх апоптозом та некрозом.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Обстеження проведено у 36 хворих на хронічний тонзиліт, з яких у 20 випадках проводили консервативне лікування і у 16 – хірургічне (тонзилектомія). Контрольну групу склали 15 практично здорових осіб без ознак ЛОР-патології. Консервативне лікування виконували пацієнтам, у яких було діагностовано просту форму

хронічного тонзиліту: наявність пробок у лакунах мигдаликів з їх пухкою поверхнею, стійка гіперемія та гіперплазія країв передніх дужок, їх злуки з мигдаликами, набряклість країв верхніх відділів піднебінних дужок, збільшення та болочість при пальпації регіонарних лімфатичних вузлів. При приєднанні до вказаних ознак періодичної субфебрильної температури, загальної слабості, нездужання, швидкої втомлюваності, зниженої працездатності, а також змін з боку інших органів і систем: періодичний біль у суглобах, функціональні зміни з боку серця, нирок, судинної системи, печінки було показане хірургічне лікування.

Визначення субпопуляційного складу, а також стану апоптозу та некрозу лімфоцитів крові та їх співвідношення AN/PI (за маркерами апоптозу – ANNEXIN V FITC і некрозу PI – пропідій йодид) проводили на проточному цитофлюориметрі "Westen Culter EpiX XL" (USA). При цьому визначали динаміку кількісних змін відносних рівнів субпопуляцій лімфоцитів (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ і CD19+). Визначення даних показників проводили безпосередньо перед початком лікування, а також через 10 діб після його проведення.

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали методом варіаційної статистики з використанням програми Microsoft Excel. Визначали середнє значення (M), стандартне відхилення (δ) та похибку середнього (m). Достовірність різниці – непараметричним методом за коефіцієнтом Манна-Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Результати проведеного дослідження свідчать, що для

хронічного тонзиліту є характерним різного ступеня зниження рівня окремих субпопуляцій лімфоцитів. Особливо це помітним було для CD3+, CD4+ і CD8+-лімфоцитів, причому, більш інтенсивне їх зменшення відмічалось у хворих, яким було показано оперативне втручання, порівняно з пацієнтами, які підлягали консервативному лікуванню (табл.). Так, у хворих, яким застосовували тонзилектомію до операції, відносний рівень CD3+, CD4+ і CD8+-лімфоцитів був відповідно на 61,0; 58,0 і 12,6 % достовірно нижчим, ніж у контролі. У пацієнтів, які підлягали консервативному лікуванню, таке зниження складало 53,3; 37,6 і 8,3 %, причому для CD8+-лімфоцитів у них різниця вже не була достовірною.

Як хірургічне, так і консервативне лікування сприяли частковому відновленню відносної кількості досліджуваних субпопуляцій лімфоцитів. Так, рівні CD3+ і CD4+-лімфоцитів у прооперованих хворих хоча і достовірно на 53,5 і 41,1 % продовжували бути нижчими від контрольних величин, вони водночас достовірно на 19,2 і 34,3 % перевищували доопераційний рівень. Рівень CD8+-лімфоцитів суттєво не змінювався.

У хворих після консервативного лікування також відмічалось достовірне зростання відносного (на 11,8 %) рівня показника CD3+-лімфоцитів з одночасним достовірним зниженням (на 14,5 %) CD19+-лімфоцитів. CD4+ і CD16+-лімфоцити також набували тенденції до зростання, проте і надалі залишалися достовірно нижчими (на 33,2 і 6,9 % відповідно) від контрольних показників.

Отримані дані свідчать про те, що більш інтенсивно йде відновлення рівня субпопуляцій лімфоцитів після хірургічного лікування. Однак через нижчі початкові дані рівень такого відновлення продовжує залишатися нижчим від показників, які були зареєстровані після консервативного лікування.

Паралельно до змін субпопуляційного складу, ми відмітили зміни рівня апоптозу і некрозу лімфоцитів крові та їх співвідношення. Як видно із таблиці, більш відчутними були зміни рівня апоптозу в той час, як рівень некрозу

застосовувався значно менших коливань. Зокрема, рівень апоптозу в пацієнтів до операції був достовірно на 81,8 % вищим від контрольного рівня, а у хворих до проведення консервативного лікування таке перевищення складало 53,6 % ($p < 0,05$), співвідношення AN/PI у цих групах хворих також перевищувало вихідні дані – на 78,0 і 21,7 % відповідно. Тобто у хворих, яким було показано хірургічне втручання, дане співвідношення значно перевищувало таке, що реєструвалося у пацієнтів, яким було показано консервативне лікування. Після проведених методів лікування рівень співвідношення AN/PI у обох групах знижувався і наближався до вихідних даних, хоча абсолютний рівень апоптозу продовжував залишатися достовірно на 20,1 і 35,3 % вищим від контролю. Тобто більш інтенсивне його зниження відбувалося знову ж таки після хірургічного видалення мигдаликів.

Динаміка кількісних змін різних субпопуляцій лімфоцитів, встановлена нами, свідчить про суттєву перебудову імунної системи за умов прогресування хронічного тонзиліту. Зокрема, низький рівень CD3+, CD4+ і CD8+-лімфоцитів у периферичній крові хворих до лікування свідчить про суттєве ослаблення клітинного імунітету. Причому в пацієнтів, яким показано хірургічне лікування, таке зниження було більш інтенсивним, ніж у хворих, яким проводилося консервативне лікування. Тобто ступінь зниження CD3+, CD4+ і CD8+-лімфоцитів можна пов'язати з інтенсивністю і глибиною патологічного процесу. Подібна динаміка, але з протилежним направленням вектора, спостерігалася і за рівнем апоптозу лімфоцитів та його співвідношення із некрозом. Зокрема, рівень цих показників до лікування суттєво перевищував контрольні, дані й у хворих, яким було показано хірургічне лікування їх зростання було більш інтенсивним, ніж у пацієнтів, яким проводилося консервативне лікування, що також може відображати інтенсивність і глибину патологічного процесу. Часткове відновлення досліджуваних показників після проведеного лікування може бути свідченням його ефективності.

Таблиця. Особливості зміни рівнів субпопуляцій лімфоцитів і апоптозу й некрозу та їх співвідношення до і після застосування різних методів лікування (M±m)

Група хворих	Відносний показник субпопуляцій лімфоцитів крові					Рівень апоптозу і некрозу лімфоцитів крові та їх співвідношення		
	CD3+	CD4+	CD8+	CD16+	CD19+	AN %	PI %	AN/PI
Контроль	50,77±2,32	28,99±2,83	10,25±1,06	15,12±0,98	18,22±1,99	7,54±1,01	1,34±0,24	5,77±0,94
До хірургічного лікування	19,81±2,33*	12,17±1,86*	8,96±0,79*	12,83±3,1*	17,13±2,09	13,71±2,52*	1,39±0,36	10,27±1,76*
Після хірургічного лікування	23,61±2,5*#	17,06±2,37*#	8,64±0,72*	14,71±2,15	18,35±1,82	9,06±1,62*#	1,37±0,45	6,93±1,78#
До консерва- тивного лікування	23,7±1,78*	18,09±1,21*	9,4±0,94	13,99±1,47*	19,66±1,54	11,58±2,19*	1,75±0,46	7,02±1,49
Після консерва- тивного лікування	26,99±1,54*#	19,36±1,01*	9,54±0,53	14,08±1,13*	16,81±1,36*#	10,02±1,42*	1,53±0,29	6,79±0,78

Примітка: 1) * – $p < 0,05$, порівняно з контролем;

2) # – $p < 0,05$, порівняно з рівнем, зареєстрованим до лікування.

ВИСНОВКИ Хронічний тонзиліт супроводжується зниженням рівня субпопуляцій CD3+, CD4+ і CD8+-лімфоцитів крові з одночасним зростанням рівня апоптозу і його співвідношення з некрозом, ступінь яких відображає глибину патологічного процесу, що дозволяє використовувати дані показники у якості додаткових

маркерів для визначення тактики лікування і контролю за його ефективністю.

Перспективи подальших досліджень Подальші дослідження дозволять більш ефективно встановлювати ступінь ураження мигдаликів при хронічному тонзиліті й покращити результати його лікування.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Волков А. В. Иммуномодулирующая терапия при хроническом тонзиллите / А. В. Волков // РМЖ. – 2010. – № 2. – С. 90.
2. Заболотный Д. И. Теоретические аспекты генеза и терапии хронического тонзиллита / Д. И. Заболотный, О. Ф. Мельников. – К. : Здоров'я, 1999. – 145 с.
3. Красницкая А. С. Иммунологические аспекты хронического тонзиллита, ассоциированного с вирус Эпштейна-Барра-инфекцией / А. С. Красницкая, Н. А. Боровская // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 4. – С. 299–305.
4. Мельников О. Ф. Современные подходы к консервативной терапии хронического тонзиллита / О. Ф. Мельников, Д. Д. Заболотная. – К. : ООО "Вістка", 2012. – 80 с.
5. Динамика иммунологических показателей и исследование апоптоза лимфоцитов небных миндалин у больных хроническим тонзиллитом на фоне консервативного лечения / А. В. Полевщиков, С. Г. Вахрушев, Е. А. Пожиленкова [и др.] // Вестник оториноларингологии. – 2011. – № 3. – С. 13 – 17.
6. Полунина Т. А. Тонзиллэктомия у детей / Т. А. Полунина // Вопросы современной педиатрии. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 90–92.
7. Сербин М. Е. Апоптоз и его молекулярные эффекторы / М. Е. Сербин, Е. В. Щербак : сб. Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии ; под ред. проф., д-ра мед. наук Н. Н. Ильинских. – Томск : Сибирский государственный медицинский университет, 2004. – В.1. – С. 3–4.
8. Уразова О. И. Молекулярно-генетические факторы туберкулеза легких / О. И. Уразова // Бюл. сибир. мед. – 2010. – № 5. – С. 5–13.
9. Clinical practice guideline : tonsillectomy in children / R. Baugh, S. Archer, R. Mitchell [et al.] // Otolaryngology. – Head and Neck Surgery. – 2011. – № 144. – P. 1.
10. Cullen K. A. Ambulatory Surgery in the United States, 2006 / K. A. Cullen, M. J. Hall, A. Golosinskiy // National Health Statistics reports no. 11, revised. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics; 2009.
11. Kaygusuz I. Evaluation of long-term impacts of tonsillectomy on immune functions of children: a follow-up study / I. Kaygusuz // Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. – 2009. – Vol. 73, №3. – P. 445–449.
12. Ponomarev L. E. The state of antigen-dependent immunity system in children with chronic tonsillitis / L. E. Ponomarev, R. A. Khanferian, O. V. Borovikov // Vestn. Otorinolaringol. – 2001. – Vol. 2. – P. 32–34.
13. Quality of life after tonsillectomy in children with recurrent tonsillitis / N. A. Goldstein, M. G. Stewart, D. L. Witsell [et al.] // Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2008. – № 138. – P. 9–16.
14. Van Parijs L. The roles of costimulation and Fas in T cell apoptosis and peripheral tolerance / L. Van Parijs, A. Ibraghimov, A. K. Abbas // Immunity. – 1996. – Vol. 4. – P. 321–328.
15. Yokoyama Y. Decreased serum and pharyngeal antibody levels specific to streptococcal lipoteichoic acid in children with recurrent tonsillitis / Y. Yokoyama, Y. Harabuchi // Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. – 2002. – Vol. 63, № 3. – P. 199–207.

Отримано 19.04.17

©М. І. Герасимчук

I. Horbachevsky Ternopil State Medical University

CONDITION OF SUBPOPULATION COMPOSITION OF LYMPHOCYTES BLOOD AND ITS RELATIONSHIP WITH APOPTOSIS AND NECROSIS BEFORE AND AFTER DIFFERENT METHODS OF TREATMENT OF CHRONIC TONSILLITIS

Summary. At present, the tonsillary problem in its clinical aspect has shifted towards the sparing attitude to the lymphoepithelial structures of the oro- and nasopharynx. However, tonsillectomy continues to be one of the most common techniques performed by otolaryngologists. This dictates the need for further search and development of criteria that would help to differentiate the process of transformation of the tonsils from an organ that carries the beneficial functions to the tonsils as a cell of infection and thereby contribute to the optimal choice of treatment tactics.

The aim of the study – to conduct an analysis of changes in the subpopulation composition of lymphocytes before and after various methods of treatment of chronic tonsillitis in comparison with their apoptosis and necrosis.

Materials and Methods. The survey was conducted in patients with chronic tonsillitis before and after operative and conservative treatment. Determination of the subpopulation composition, as well as the state of apoptosis and necrosis of blood lymphocytes and their correlation were carried out on a flow cytometric meter Beckman Coulter Epix XL (USA).

Results and Discussion. The results of the conducted research indicate that chronic tonsillitis is characterized by varying degrees of decrease in the level of individual subpopulations of lymphocytes. Especially for CD3+, CD4+ and CD8+-lymphocytes, moreover, their more intense reduction was noted in patients who were shown surgical intervention as compared to patients who were subject to conservative treatment. Both surgical and conservative treatment contributed to a partial restoration of the relative number of studied subpopulations of lymphocytes. The obtained data indicate that the restoration of the level of subpopulations of lymphocytes after surgical treatment is more intensive. However, due to lower initial data, the level of such recovery continued to be lower than those recorded after conservative treatment. In parallel with changes in the subpopulation composition, changes in the level of apoptosis and blood lymphocytic necrosis and their correlation were also noted. In patients who were shown surgical intervention, this ratio significantly exceeded that recorded in patients who were shown conservative treatment. After the treatment methods, the ratio of apoptosis and necrosis in both groups decreased and became close to the baseline data, although the absolute level of apoptosis continued to be significantly higher than control. A more intense reduction occurred again after the surgical removal of the tonsils.

Conclusions. Chronic tonsillitis is accompanied by a decrease in the level of subpopulations of blood CD3 +, CD4 + and CD8 + - lymphocytes with the simultaneous increase in apoptosis and its correlation with necrosis, the degree of which reflects the depth of the pathological process, which allows the use of these indicators as additional markers to determine the treatment tactics and control its effectiveness.

Key words: chronic tonsillitis; subpopulations; lymphocytes; apoptosis; necrosis.

СОСТОЯНИЕ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ И ЕГО СООТНОШЕНИЕ С АПОПТОЗОМ И НЕКРОЗОМ ДО И ПОСЛЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ТОНЗИЛЛИТА

Резюме. В настоящее время тонзиллярная проблема в ее клиническом аспекте сместилась в сторону щадящего отношения к лимфоэпителиальным структурам рото- и носоглотки. Вместе с тем, тонзиллэктомия продолжает оставаться одной из самых распространенных методик, выполняемых оториноларингологами. Это диктует необходимость дальнейшего поиска и разработки критериев, которые бы помогали дифференцировать процесс трансформации миндалин из органа, несущего полезные функции от миндалин как очага инфекции и тем самым способствовать оптимальному выбору тактики лечения.

Цель исследования – провести анализ изменения субпопуляционного состава лимфоцитов до и после различных методов лечения хронического тонзиллита в сопоставлении с их апоптозом и некрозом.

Материал и методы. Обследование проведено у больных хроническим тонзиллитом до и после оперативного и консервативного лечения. Определение субпопуляционного состава, а также состояние апоптоза и некроза лимфоцитов крови и их соотношение проводили на проточном цитофлюориметре «Beckman Coulter Epix XL» (USA).

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что для хронического тонзиллита характерным является разная степень снижения уровня отдельных субпопуляций лимфоцитов. Особенно для CD3+, CD4+ и CD8+-лимфоцитов, причем, более интенсивное их снижение отмечалось у больных, которым было показано оперативное вмешательство по сравнению с пациентами, которые подлежали консервативному лечению. Как хирургическое, так и консервативное лечение способствовали частичному восстановлению относительного количества исследуемых субпопуляций лимфоцитов. Полученные данные свидетельствуют о том, что более интенсивно идет восстановление уровня субпопуляций лимфоцитов после хирургического лечения. Однако из-за более низкого уровня исходных данных показатели в оперированных больных продолжали оставаться ниже показателей, которые были зарегистрированы после консервативного лечения. Параллельно с изменениями субпопуляционного состава, были отмечены также изменения уровня апоптоза и некроза лимфоцитов крови и их соотношение. У больных, которым было показано хирургическое вмешательство, данное соотношение значительно превышало такое, что регистрировалось у пациентов, которым было показано консервативное лечение. После проведенных методов лечения уровень соотношения апоптоза и некроза в обеих группах снижался и приближался к исходным данным, хотя абсолютный уровень апоптоза продолжал оставаться достоверно выше контроля. Более интенсивное снижение происходило опять же после хирургического удаления миндалин.

Выводы. Хронический тонзиллит сопровождается снижением уровня субпопуляций CD3+, CD4+ и CD8+-лимфоцитов крови с одновременным ростом уровня апоптоза и его соотношения с некрозом, степень которых отражает глубину патологического процесса, что позволяет использовать данные показатели в качестве дополнительных маркеров для определения тактики лечения и контроля за его эффективностью.

Ключевые слова: хронический тонзиллит; субпопуляции; лимфоциты; апоптоз; некроз.