

# ЦИТОКИНЫ В НОСОГЛОТОЧНЫХ СМЫВАХ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ АДЕНОИДИТОМ В ХОДЕ МЕСТНОЙ МОНОТЕРАПИИ ИМУНОФАНОМ

Кузнецова Р.Н.<sup>1</sup>, Сысоев К.А.<sup>2</sup>, Лебедев В.В.<sup>3</sup>,  
Тутельян А.В.<sup>3</sup>, Тотолян Арег А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Детская городская поликлиника № 1, г. Астрахань

<sup>2</sup> Научно-методический центр МЗ РФ по молекулярной медицине на базе Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Научно-производственное предприятие «Бионкс», Москва

**Резюме.** Проблема хронического аденоидита ввиду ее медицинской и социальной значимости многие годы находится в центре внимания оториноларингологов, педиатров, иммунологов. По данным разных исследователей, хронические аденоидиты у детей составляют 20-56% от всех заболеваний верхних дыхательных путей. Хронический аденоидит характеризуется сравнительной устойчивостью к традиционной терапии, а в выраженных случаях — малой обратимостью патологического процесса. Проведенные исследования показали, что у больных хроническим аденоидитом имеются признаки местной иммунологической недостаточности, которые проявлялись в снижении местной секреции IL-8, IL-4, IL-10 и GM-CSF и были расценены как показание для назначения местной иммунокоррекции. С этой целью нами был использован препарат Имунофан в виде спрея для интраназального применения. Динамика клинических симптомов и показателей местного иммунитета показала, что эффективность терапии Имунофаном зависела не только от исходных клинических проявлений заболевания, но и от уровня цитокинов в носоглоточных смывах больных. Терапевтический эффект Имунофана был наиболее выражен у пациентов с исходным преобладанием Th1 иммунного ответа и клеточного типа реакций иммунитета в очаге воспаления. Набор таких клинических и лабораторных данных, как течение хронического аденоидита без гипертрофии глоточной миндалины, преобладание у пациентов местного Th1-типа иммунного ответа и клеточного типа реакций могут быть использованы в качестве мониторинга для назначения местной иммунотерапии препаратом Имунофан больным с хроническим аденоидитом.

*Ключевые слова:* местный иммунитет, цитокины, хронический аденоидит, имунофан.

*Kuznetsova R.N., Syssoev K.A., Lebedev V.V., Tutelian A.V., Totolian Areg A.*

## CYTOKINES IN OROPHARYNGEAL LAVAGES FROM THE PATIENTS WITH CHRONIC ADENOIDITIS IN THE COURSE OF LOCAL MONOTHERAPY WITH IMUNOPHAN

**Abstract.** Since decades, the aspects of chronic adenoiditis draw attention of specialists in ORL. From different data, prevalence of chronic adenoiditis is 20 to 56 per cent among children with diseases of upper respiratory ways. Chronic adenoiditis is relatively resistant to conventional therapy, and irreversible clinical course is revealed in more severe cases. The studies performed have shown that the patients with chronic adenoiditis exhibit signs of local immune deficiency that manifested into decreased local secretion of IL-4, IL-10 and GM-CSF, thus being considered as an indication for local immunocorrection procedures. To this purpose, we used Imunophan as a spray for intranasal application. Dynamics of clinical symptoms and local immune parameters showed that the efficiency of Imunophan treatment was dependent of both initial clinical features of the disorder, and on cytokine levels in oropharyngeal lavages. Therapeutic effect of Imunophan was more expressed in the patients with initial predomination

**Адрес для переписки:**

Кузнецова Раиса Николаевна  
414041, г. Астрахань, ул. Нариманова, 2Б, кв. 25.  
Факс: 8-851-2-39-17-82.

of Th1 immune response and cell-type immune reactions in the area of inflammation. A set of certain clinical and laboratory data, i.e., absence of enlarged pharyngeal glands, predominance of local Th1 type response and cellular type of immune response may be used for monitoring before administration of local immunotherapy with Imunophan in the patients with chronic adenoiditis. (*Med. Immunol.*, 2008, vol. 10, N 2-3, pp 261-268)

## Введение

Проблема хронического аденоидита ввиду ее медицинской и социальной значимости многие годы находится в центре внимания оториноларингологов, педиатров, иммунологов [18, 19, 20]. По данным разных исследователей, хронические аденоидиты у детей составляют 20-56% от всех заболеваний верхних дыхательных путей [16]. В структуре ЛОР-заболеваний патология глоточной миндалины составляет 50-52% [2]. В возрасте от 3 до 14 лет хроническим аденоидитом страдает 4,3% детей [1].

Хронический аденоидит характеризуется сравнительной устойчивостью к традиционной терапии, а в выраженных случаях малой — обратимостью патологического процесса. Хронический аденоидит взаимосвязан с поражением отдельных органов и систем, а число осложнений и сопряженных с ним заболеваний насчитывает несколько десятков [20].

Благодаря особенностям анатомической локализации лимфоидная ткань глотки находится в тесном и постоянном контакте с окружающей средой и является иммунокомпетентным образованием, играющим значительную роль в обеспечении защиты организма от инфекций [3].

Характер и течение инфекционного процесса во многом определяется видом возбудителя и его патогенностью [17]. При хронических воспалительных ЛОР-заболеваниях у детей наиболее часто определяется бактериальная флора. Характерным является наличие полифлоры, и в связи с этим сложность выделения ведущего этиологического фактора [6].

Глоточная миндалина в составе лимфоэпителиального глоточного кольца входит в состав единой иммунной системы, формируя иммунологическую резистентность организма. Основными функциями лимфоэпителиальных органов являются: барьерная функция, местный иммунитет, а также участие в системном иммунном ответе [21, 22].

Несмотря на многочисленные работы по изучению хронического аденоидита, остаются актуальными проблемы выявления дефектов местного иммунитета при хроническом воспалении глоточной миндалины и изучения механизмов иммунологической регуляции, среди которых локальная цитокиновая сеть занимает центральное место.

Поскольку нарушения иммунологических механизмов системного и регионарного уровней часто встречаются в патогенезе ЛОР-заболеваний, современная комплексная терапия невозможна

без применения иммунокорректирующих препаратов. Этим объясняется необходимость поиска новых средств, направленных на восстановление различных звеньев иммунной системы.

Многими исследователями изучались возможности местной иммуномодулирующей терапии в лечении хронических заболеваний носоглотки [5, 8, 15, 19].

Ранее нами была показана клиническая эффективность монотерапии хронического аденоидита аэрозольной формой препарата Имунофан («Бионокс», Москва) [9, 10, 11, 12, 13, 14].

Целью данной работы было изучение нарушения цитокиновой регуляции местного иммунитета при различных клинических вариантах хронического аденоидита и оценка возможности их коррекции препаратом Имунофан.

## Материалы и методы

Нами было обследовано 35 пациентов в возрасте от 4 до 7 лет (средний возраст  $5,86 \pm 1,17$  лет), проходивших амбулаторное лечение в Детской городской поликлинике № 1 города Астрахани. Длительность заболевания составляла от 1 до 3 лет. Диагноз был установлен на основании анамнеза, объективного клинического осмотра с использованием специальных методов исследования носоглотки.

Контрольную группу составили 15 практически здоровых детей в возрасте 4-7 лет.

У пациентов и практически здоровых лиц были получены носоглоточные смывы. С помощью гортанного шприца и стерильной носоглоточной насадки в полость носа со стороны носоглотки вводили 5 мл теплого ( $37^\circ\text{C}$ ) физиологического раствора, после чего, удерживая голову пациента вниз под углом  $45^\circ$ , самотеком собирали вытекающую из носа жидкость в приготовленную стерильную посуду. Полученный биологический материал центрифугировали при  $4^\circ\text{C}$  в течение 60 минут. Надосадок собирали в несколько пластиковых стерильных пробирок однократного применения, объемом 1,5 мл [8], добавляли 0,1% раствора азиды натрия («Sigma») в конечной концентрации 200 мкл/мл. Пробы хранили при  $-20^\circ\text{C}$  до проведения иммунологического исследования.

В носоглоточных смывах цитокины определяли методом мультиплексного анализа белков на приборе Bio-Plex («Bio-Rad», США) с использованием коммерческих тест-систем 8-Plex. Для TNF $\alpha$  чувствительность теста составила — 0,48 пг/мл, для IL-6 — 0,48 пг/мл, для IL-8 — 0,50 пг/мл, для

IFN $\gamma$  – 0,48 пг/мл, для IL-2 – 0,27 пг/мл, для IL-4 – 0,50 пг/мл, для IL-10 – 0,50 пг/мл, для GM-CSF – 0,47 пг/мл.

Помимо концентрации цитокинов определяли следующие индексы соотношения цитокинов в носоглоточных смывах:

Индекс: IFN $\gamma$ /IL4 = уровень IFN $\gamma$  (пг/мл)/уровень IL-4 (пг/мл).

Индекс: IFN $\gamma$ /IL10 = уровень IFN $\gamma$ /уровень IL-10 (пг/мл).

Индекс воспаления: провоспалительные цитокины/противовоспалительные (Пв/Пт) = [(суммарный уровень (TNF $\alpha$  + IL-6 + IL-8) (пг/мл)] : 3)/уровень IL-10 (пг/мл)

Все пациенты получили курс терапии препаратом Имунофан в виде спрея для интраназального применения (360 мкг/мл) в суточной дозе 100 мкг, однократно в сутки, в течение 10 дней. Предварительно пациентам проводился носовой душ с изотоническим раствором натрия хлорида для удаления патологического отделяемого из полости носа и носоглотки. Препарат Имунофан применялся в виде монотерапии. В лечении больных не использовались антибиотики и антисептики, а также не применялись физиотерапевтические воздействия.

Анализ носоглоточных смывов проводился 2 раза: до и после курса лечения.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета международной программы SPSS 13.0 for Windows. Оценка достоверности различия полученных результатов проводилась вычислением непараметрических критериев: Манна–Уитни (для независимых рядов) и рангового критерия Уилкоксона (для зависимых рядов). Различие считалось достоверным при  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ . Также определялись по-

казатели описательной статистики: средняя арифметическая (M), стандартное отклонение (SD).

## Результаты

При обследовании группы здоровых лиц в носоглоточных смывах была выявлена незначительная местная продукция TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-4, IL-10, GM-CSF. Наиболее выраженной была продукция IL-8, средние значения которого в 80-200 раз превышали уровень продукции выше перечисленных цитокинов. Также была обнаружена выраженная местная продукция IL-6, средний уровень которого был значительно выше значений TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-4, IL-10, GM-CSF, но в 30 раз меньше концентрации IL-8 (табл. 1).

При сравнении уровня цитокинов в носоглоточных смывах с использованием теста Манна–Уитни было выявлено достоверное снижение концентрации IL-8, IL-4, IL-10 и GM-CSF в группе больных хроническим аденоидитом по сравнению с группой здоровых лиц, что позволило сделать предположение о наличии недостаточности местного иммунитета, которая препятствовала успешному завершению воспалительного процесса и способствовала хронизации бактериального процесса у больных хроническим аденоидитом (табл. 1).

В группе больных хроническим аденоидитом индекс воспаления был в 4,8 раз выше ( $131,8 \pm 111,5$ ) по сравнению с индексом в группе здоровых лиц (табл. 1). Увеличение значения данного индекса, отражающего соотношение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в группе больных, было преимущественно связано со снижением концентрации противовоспалительного цитокина IL-10.

**ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В НОСОГЛОТОЧНЫХ СМЫВАХ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ АДЕНОИДИТОМ ДО ЛЕЧЕНИЯ**

| Цитокины            | Уровень цитокинов в носоглоточных смывах (пг/мл), M $\pm$ SD |  |   |  |        |
|---------------------|--|--|---|--|--------|
|                     | Контрольная группа (n = 15)                                  | Все больные хроническим аденоидитом (n = 35) | Больные хроническим аденоидитом             |  | p      |
|                     |  |  | с гипертрофией глоточной миндалины (n = 18) | без гипертрофии глоточной миндалины (n = 17) |        |
| TNF $\alpha$        | 3,6 $\pm$ 3,2  | 1,21 $\pm$ 0,88                              | 1,17 $\pm$ 0,77                             | 1,31 $\pm$ 1,1                               |        |
| IL-6                | 10,11 $\pm$ 16,99  | 13,56 $\pm$ 15,95                            | 19,06 $\pm$ 23,45                           | 12,6 $\pm$ 20,01                             |        |
| IL-8                | 293,34 $\pm$ 180,92  | 238,28 $\pm$ 210,58*                         | 168,65 $\pm$ 79,55*                         | 231 $\pm$ 452,57                             |        |
| IFN $\gamma$        | 3,81 $\pm$ 2,35  | 4,85 $\pm$ 18,67                             | 3,69 $\pm$ 3,15                             | 7,2 $\pm$ 12,37*                             | < 0,05 |
| IL-2                | 0,64 $\pm$ 0,14  | 0,54 $\pm$ 0,18                              | 0,5 $\pm$ 0,07                              | 0,57 $\pm$ 0,25                              |        |
| IL-4                | 3,9 $\pm$ 0,71   | 2,43 $\pm$ 0,59*                             | 2,44 $\pm$ 0,98                             | 2,31 $\pm$ 0,63*                             |        |
| IL-10               | 3,78 $\pm$ 3,88  | 0,64 $\pm$ 0,17*                             | 0,7 $\pm$ 0,29*                             | 0,63 $\pm$ 0,23*                             |        |
| GM-CSF              | 1,34 $\pm$ 0,2   | 0,85 $\pm$ 0,68*                             | 1,06 $\pm$ 0,51                             | 1,24 $\pm$ 1,02                              |        |
| Пв/Пт               | 27,7 $\pm$ 17,55   | 131,79 $\pm$ 111,48*                         | 62,96 $\pm$ 34,59*                          | 77,86 $\pm$ 161,19                           |        |
| IFN $\gamma$ /IL-4  | 0,97 $\pm$ 3,3   | 1,99 $\pm$ 27,4                              | 1,51 $\pm$ 3,21                             | 3,11 $\pm$ 19,6                              |        |
| IFN $\gamma$ /IL-10 | 1,0 $\pm$ 0,6  | 7,5 $\pm$ 109,8                              | 5,27 $\pm$ 10,8                             | 11,4 $\pm$ 53,78                             |        |

**Примечание.** \* – достоверность различий по сравнению с нормой при  $p < 0,05$ .

Учитывая разную клиническую симптоматику, выявленную при объективном осмотре больных, мы провели сравнительный анализ содержания цитокинов в носоглоточных смывах в выделенных клинических группах больных. Среди пациентов, у которых был исследован уровень цитокинов в носоглоточных смывах ( $n = 35$ ), у 18 человек хронический аденоидит сопровождался гипертрофией глоточной миндалины, у 17 больных хронический аденоидит протекал без ее гипертрофии.

По уровню цитокинов в носоглоточных смывах статистически достоверное различие в группах было выявлено только по содержанию  $IFN\gamma$ . В группе больных с хроническим аденоидитом без гипертрофии глоточной миндалины концентрация  $IFN\gamma$  была достоверно выше ( $p < 0,05$ ) по сравнению с его уровнем в носоглоточных смывах пациентов с хроническим аденоидитом с гипертрофией глоточной миндалины (табл. 1). Следует отметить, что достоверность различия в уровне  $IFN\gamma$  была выявлена только по сравнению с его концентрацией в носоглоточных смывах у больных с гипертрофией глоточной миндалины 2-й и 3-й степени (табл. 2).

Уровень  $IL-8$  в смывах больных с гипертрофией глоточной миндалины был достоверно ниже по сравнению с уровнем в носоглоточных смывах контрольной группы, но данное различие было выявлено только при гипертрофии глоточной миндалины 1, 2 степени (табл. 2). У больных с хроническим аденоидитом без гипертрофии глоточной миндалины было выявлено достоверное снижение концентрации  $IL-4$  в носоглоточных смывах по сравнению с уровнем данного цитокина в смывах пациентов контрольной группы

( $p < 0,05$ ) Уровень  $IL-10$  был достоверно ниже значений в контрольной группе у всех больных с хроническим аденоидитом (табл. 1, 2). Статистически достоверных различий в соотношениях провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у больных в выделенных клинических группах выявлено не было (табл. 1, 2).

Учитывая выявленную местную иммунологическую недостаточность у больных хроническим аденоидитом, мы применили в качестве монотерапии препарат Имунофан в форме спрея для интраназального применения.

Клиническое улучшение у больных, получавших Имунофан, наступало на 3-й день от начала курса лечения и выражалось в регрессии клинических симптомов аденоидита. Клиническое выздоровление при проведении монотерапии препаратом Имунофан наблюдалось в 65% случаев. У 12,9% больных через 3 суток после первого введения препарата были обнаружены признаки отрицательного клинического эффекта, которые проявлялись в виде усиления кашля, появления выраженной ринореи. Больным был отменен курс монотерапии Имунофаном и назначено стандартное лечение хронического аденоидита. В 22,1% случаев не отмечалось клинического улучшения после окончания 10-дневного курса препаратом Имунофан.

Для оценки результатов иммунологических исследований при проведении курса терапии все больные, подлежащие иммунологическому мониторингу ( $n = 35$ ), были разделены на 3 группы:

Группа 1 – больные, получавшие препарат, с положительным клиническим эффектом ( $n = 17$ ).

Группа 2 – больные, получавшие препарат, без клинического эффекта ( $n = 10$ ).

**ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В НОСОГЛОТОЧНЫХ СМЫВАХ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ АДЕНОИДИТОМ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ГИПЕРТРОФИИ ГЛОТОЧНОЙ МИНДАЛИНЫ ДО ЛЕЧЕНИЯ**

| Цитокины          | Уровень цитокинов в носоглоточных смывах (пг/мл), $M \pm SD$ |                                 |   |   |   |                          |
|-------------------|--|---------------------------------|---|---|---|--------------------------|
|                   | Контрольная группа ( $n = 15$ )                              | Хронический аденоидит           |   |   |   | p                        |
|                   |  | без гипертрофии ГМ ( $n = 17$ ) | с гипертрофией ГМ 1 степени ( $n = 8$ ) | с гипертрофией ГМ 2 степени ( $n = 5$ ) | с гипертрофией ГМ 3 степени ( $n = 5$ ) |                          |
|                   |  | 0                               | 1                                       | 2                                       | 3                                       |                          |
| $TNF\alpha$       | 3,6±3,2  | 1,31±1,1                        | 2,0±0,97                                | 1,15±0,52                               | 0,93±0,47                               |                          |
| $IL-6$            | 10,11±16,99  | 12,6±20,01                      | 10,88±13,2                              | 19,91±15,62                             | 20,34±19,79                             |                          |
| $IL-8$            | 293,34±180,92  | 231±452,57                      | 118,55±94,98                            | 140,01±46,81*                           | 207,482±105,46                          | 3-1 < 0,05               |
| $IFN\gamma$       | 3,81±2,35  | 7,2±12,37*                      | 12,47±12,08                             | 3,24±1,33                               | 3,43±2,04                               | 2-0 < 0,05<br>3-0 < 0,05 |
| $IL-2$            | 0,64±0,14  | 0,57±0,25                       | 0,78±0,31                               | 0,5±0,03                                | 0,49±0,05                               |                          |
| $IL-4$            | 3,9±0,71   | 2,31±0,63*                      | 2,38±0,35                               | 2,38±0,86                               | 2,51±0,59                               |                          |
| $IL-10$           | 3,78±3,88  | 0,63±0,23*                      | 1,02±0,45*                              | 0,81±0,25*                              | 0,66±0,18*                              |                          |
| GM-CSF            | 1,34±0,2   | 1,24±1,02                       | 1,2±0,64                                | 0,86±1,3                                | 1,06±0,33                               |                          |
| Пв/Пт             | 27,7±17,55   | 77,86±161,19                    | 36,5±80,85                              | 66,2±43,9                               | 115,5±232,8                             |                          |
| $IFN\gamma/IL-4$  | 0,97±3,3   | 3,11±19,6                       | 5,23±34,51                              | 1,36±1,54                               | 1,36±11,33                              |                          |
| $IFN\gamma/IL-10$ | 1,0±0,6  | 11,4±53,78                      | 12,2±26,8                               | 4,0±5,32                                | 5,19±11,33                              |                          |

**Примечание.** \* – достоверность различий по сравнению с нормой при  $p < 0,05$ .

ТАБЛИЦА 3. ИСХОДНЫЙ ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ НОСОГЛОТОЧНЫХ СМЫВОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ИМУНОФАНОМ

| Цитокины            | Уровень цитокинов в назальных смывах (пг/мл), M±SD |                   |            |                   |             |                  |                          |
|---------------------|--|-------------------|------------|-------------------|-------------|------------------|--------------------------|
|                     | Здоровые<br>(n = 15)                               | 1 группа (n = 17) |            | 2 группа (n = 10) |             | 3 группа (n = 8) |                          |
|                     |  | До лечения        | p          | До лечения        | p           | До лечения       | p                        |
|                     | 0  | 1                 |            | 2                 |             | 3                |                          |
| TNF $\alpha$        | 3,6±3,2  | 1,31±1,1          |            | 1,2±0,77          |             | 1,13±0,78        |                          |
| IL-6                | 10,11±16,99  | 12,55±20,01       |            | 11,81±15,56       |             | 26,32±31,34      | 3-0 < 0,05<br>3-1 < 0,05 |
| IL-8                | 293,34±180,92                                      | 231,04±452,57     |            | 124,60±62,38      | 2-0 < 0,05  | 213,21±97,53     | 3-0 < 0,01               |
| IFN $\gamma$        | 3,81±2,35  | 7,17±12,37        |            | 5,05±4,87         |             | 2,34±1,43        | 3-1 < 0,05               |
| IL-2                | 0,64±0,14  | 0,57±0,25         | 1-0 < 0,05 | 0,52±0,06         | 2-0 < 0,05  | 0,48±0,08        | 3-0 < 0,01               |
| IL-4                | 3,90±0,71  | 2,31±0,63         | 1-0 < 0,05 | 2,58±0,73         | 2-0 < 0,001 | 2,3±1,23         | 3-0 < 0,01               |
| IL-10               | 3,78±3,88  | 0,63±0,23         | 1-0 < 0,01 | 0,63±0,26         | 2-0 < 0,001 | 0,77±0,33        | 3-0 < 0,05               |
| GM-CSF              | 1,34±0,2   | 1,24±0,02         | 1-0 < 0,01 | 1,32±0,61         | 2-3 < 0,05  | 0,81±0,41        | 3-0 < 0,01               |
| IFN $\gamma$ /IL-4  | 0,97±3,3   | 3,1±9,6           | 1-0 < 0,05 | 1,95±6,6          |             | 1,02±1,16        |                          |
| IFN $\gamma$ /IL-10 | 1,01±0,6   | 11,3±53,7         | 1-0 < 0,05 | 8,01±18,7         |             | 3,03±4,33        |                          |
| Пв/Пт               | 27,7±17,55   | 129,5±685,7       |            | 72,5±100,9        |             | 104,1±130,9      |                          |

Группа 3 – больные, получавшие препарат, с отрицательным клиническим эффектом (n = 8).

При проведении специальных методов исследования носоглотки было выявлено, что у пациентов 1-й группы признаки гипертрофии глоточной миндалины были выявлены в 11,7% случаев. Во 2-й группе гипертрофия глоточной миндалины была обнаружена в 70% случаев. У больных третьей группы процент доли гипертрофии глоточной миндалины был наибольшим и составил 87,5%.

При сравнении уровня цитокинов были выявлены достоверные различия исходного уровня цитокинов в носоглоточных смывах в группах с разной клинической эффективностью терапии Имунофаном (табл. 3).

В результате проведенных исследований было выявлено, что во всех группах отмечался исходно низкий уровень IL-2, IL-4, IL-10. Отклонения от нормы были статистически достоверны при  $p < 0,05$ ;  $0,01$  (тест Краскела–Уоллиса). Первая и третья группы характеризовались исходно низкими значениями GM-CSF ( $p < 0,01$ ). Уровень IL-8 во всех выделенных группах был также ниже значений в группе здоровых лиц, но статистически достоверные различия были выявлены только во второй и третьей группах ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$ ). Самый низкий уровень IL-8 отмечался в носоглоточных смывах больных второй группы. Уровень IL-6 в смывах пациентов третьей группы был выше, чем в группе здоровых лиц. Кроме этого его уровень превышал уровни во второй и первой группах.

Следует отметить, что у больных хроническим аденоидитом во всех группах нами не было обнаружено повышение содержания провоспалительного цитокина TNF $\alpha$ . Средний уровень этого цитокина в носоглоточных смывах находился на нижней границе чувствительности метода.

Данные результаты проведенных исследований соответствовали данным некоторых авторов, которые указывали на очень низкие концентрации TNF $\alpha$  в биологических жидкостях при хронических бактериальных процессах [7].

Анализ соотношения цитокинов IFN $\gamma$  и IL-4, характеризующего соотношение клеточного и гуморального типов реакций иммунитета, показал, что средние значения этого индекса во всех группах были выше, чем в группе здоровых лиц, но статистически достоверное различие по сравнению с нормой было выявлено только в 1-й группе (табл. 3).

Сравнительный анализ соотношения IFN $\gamma$ /IL-10 до лечения позволил предположить, что в группе пациентов с положительным клиническим эффектом терапии Имунофаном местное воспаление было более выраженным, так как соотношение IFN $\gamma$ /IL-10 было достоверно выше значений в контрольной группе. Во 2-й и 3-й группах достоверных различий по сравнению со значением в контрольной группе не отмечалось.

Анализ динамики уровня цитокинов в носоглоточных смывах больных после терапии Имунофаном показал, что изменение уровня цитокинов было разнонаправленным у больных разных по клинической эффективности групп (табл. 4).

В группе пациентов с положительным клиническим эффектом (1 группа) после местной иммунотерапии препаратом Имунофаном было выявлено достоверное снижение концентрации IL-6 и повышение уровня IL-4 ( $p < 0,05$ , критерий Уилкоксона). Уровень IFN $\gamma$  после проведенной терапии Имунофаном достоверно снижался ( $p < 0,05$ , критерий Уилкоксона).

В группе больных без клинического эффекта монотерапии Имунофаном (2 группа) после проведенного лечения статистически достоверные

ТАБЛИЦА 4. УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В НОСОГЛОТОЧНЫХ СМЫВАХ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ АДЕНОИДИТОМ В ГРУППАХ С РАЗНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ТЕРАПИИ ИМУНОФАНОМ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ

| Цитокины            | Уровень цитокинов в носоглоточных смывах (пг/мл), M±SD |               |        |              |                   |        |              |               |                   |              |               |        |
|---------------------|--|---------------|--------|--------------|-------------------|--------|--------------|---------------|-------------------|--------------|---------------|--------|
|                     | 1 группа (n = 17)                                      |               |        |              | 2 группа (n = 10) |        |              |               | 3 группа (n = 17) |              |               |        |
|                     | До лечения   | После лечения | p      | До лечения   | После лечения     | p      | До лечения   | После лечения | p                 | До лечения   | После лечения | p      |
| TNF $\alpha$        | 1,31±1,1   | 0,82±0,86     |        | 1,2±0,77     | 3,93±3,88         |        | 1,13±0,78    | 1,68±0,55     |                   | 1,13±0,78    | 1,68±0,55     |        |
| IL-6                | 12,55±20,01  | 2,33±2,82     | < 0,05 | 11,81±15,56  | 10,84±17,54       |        | 26,32±31,34  | 22,13±10,32   |                   | 26,32±31,34  | 22,13±10,32   |        |
| IL-8                | 231,04±452,57  | 211,2±575,52  |        | 124,60±62,38 | 105,76±111,89     |        | 213,21±97,53 | 438,6±243,16  | < 0,05            | 213,21±97,53 | 438,6±243,16  | < 0,05 |
| IFN $\gamma$        | 7,17±12,37   | 2,69±3,07     | < 0,05 | 5,05±4,87    | 68,73±135,03      | < 0,05 | 2,24±1,43    | 0,99±0,33     |                   | 2,24±1,43    | 0,99±0,33     |        |
| IL-2                | 0,57±0,25  | 0,46±0,15     |        | 0,52±0,06    | 0,82±0,51         |        | 0,48±0,08    | 0,46±0,1      |                   | 0,48±0,08    | 0,46±0,1      |        |
| IL-4                | 2,31±0,63  | 3,68±0,26     | < 0,05 | 2,58±0,73    | 2,27±0,84         |        | 2,3±1,23     | 1,31±0,91     | < 0,05            | 2,3±1,23     | 1,31±0,91     | < 0,05 |
| IL-10               | 0,63±0,23  | 0,7±0,16      |        | 0,63±0,26    | 0,76±0,36         |        | 0,77±0,33    | 1,11±1,34     |                   | 0,77±0,33    | 1,11±1,34     |        |
| GM-CSF              | 1,24±1,02  | 0,99±0,5      |        | 1,32±0,61    | 3,03±3,88         | < 0,05 | 0,81±0,41    | 0,99±0,1      |                   | 0,81±0,41    | 0,99±0,1      |        |
| IFN $\gamma$ /IL-4  | 3,1±9,6  | 0,73±11,8     | < 0,05 | 1,95±6,6     | 30,27±160,8       |        | 1,02±1,16    | 0,75±0,36     |                   | 1,02±1,16    | 0,75±0,36     |        |
| IFN $\gamma$ /IL-10 | 11,3±53,7  | 3,84±19,18    | < 0,05 | 8,01±18,7    | 90,4±385,9        |        | 3,03±4,33    | 0,89±3,3      |                   | 3,03±4,33    | 0,89±3,3      |        |
| Пв/ПТ               | 129,5±685,65   | 102,07±1205,6 |        | 72,49±100,9  | 52,86±123,43      |        | 104,09±130,9 | 138,64±63,19  | < 0,05            | 104,09±130,9 | 138,64±63,19  | < 0,05 |

изменения были выявлены только в уровне IFN $\gamma$  ( $p < 0,05$ , критерий Уилкоксона). Концентрация данного цитокина в носоглоточных смывах была выше по сравнению с исходным уровнем.

Отрицательный клинический эффект (3 группа) местной иммунотерапии препаратом Имунофан сопровождался достоверным ( $p < 0,05$ , критерий Уилкоксона) повышением уровня IL-8 и снижением концентрации IL-4 в носоглоточных смывах больных.

Проведенный анализ динамики соотношения IFN $\gamma$ /IL-4 показал, что положительный клинический эффект терапии Имунофаном сочетался со статистически достоверным снижением данного соотношения за счет снижения концентрации IFN $\gamma$  и повышения уровня IL-4 в носоглоточных смывах больных 1-й группы после лечения. Соотношение IFN $\gamma$ /IL-10 статистически достоверно снижалось по сравнению с исходным ( $p < 0,05$ , критерий Уилкоксона), но только за счет снижения уровня IFN $\gamma$ .

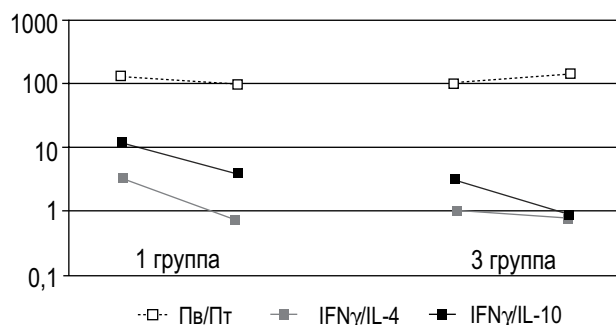
Во второй группе после проведенного лечения было выявлено достоверное повышение коэффициентов соотношения IFN $\gamma$ /IL-4 и IFN $\gamma$ /IL-10 ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходными значениями. Тенденция к повышению данных коэффициентов преимущественно была связана с повышением уровня IFN $\gamma$  в назальных смывах больных после терапии Имунофаном.

У больных с отрицательным клиническим эффектом монотерапии Имунофаном коэффициенты соотношения IFN $\gamma$ /IL-4 и IFN $\gamma$ /IL-10 после лечения имели тенденцию к снижению по сравнению с исходными, но статистическая достоверность изменения их средних значений не была доказана.

Проведенный корреляционный анализ показал, что уровень IFN $\gamma$  коррелировал со степенью гипертрофии глоточной миндалины. Между концентрацией данного цитокина в носоглоточных смывах больных до терапии Имунофаном и степенью гипертрофии глоточной миндалины была установлена обратная корреляционная связь ( $r = -0,63$ ,  $p < 0,05$ ).

Между концентрацией IL-8 и температурой тела (субфебрилитетом) выявлена прямая корреляционная зависимость ( $r = 0,75$ ,  $p < 0,01$ ) после проведенного лечения в группе больных с отрицательным клиническим эффектом терапии Имунофаном. Кроме этого, была выявлена прямая корреляционная связь между уровнем IL-8 и наличием гнойного секрета на задней стенке глотки ( $r = 0,63$ ,  $p < 0,05$ ).

В группе больных с положительным клиническим эффектом (1 группа) была выявлена слабая прямая корреляционная связь между очищением носоглотки от секрета после местной иммунотерапии Имунофаном и уровнем IL-4 ( $r = 0,63$ ,  $p < 0,05$ ).



**Рисунок 1.** Динамика индексов соотношения цитокинов в зависимости от эффективности лечения после терапии Имунофаном

**Примечание.** \* – достоверность различий по сравнению с исходным уровнем при  $p < 0,05$ .

После проведенной монотерапии Имунофаном была установлена прямая взаимосвязь между уровнем ИЛ-8 и относительным количеством нейтрофилов в назальном секрете больных 3-й группы ( $r_s = 0,66$ ,  $p < 0,05$ , при анализе по Спирмену). Между концентрацией ИЛ-8 в носоглоточных смывах пациентов данной группы и относительным количеством лимфоцитов и эозинофилов была установлена обратная корреляционная связь ( $r_s = -0,64$  при  $p < 0,05$ ;  $r_s = -0,7$  при  $p < 0,01$ ). Кроме клеток назального секрета больных ИЛ-8 коррелировал с IgG носоглоточного смыва (выявлена обратная корреляционная связь:  $r_s = -0,72$ ,  $p < 0,01$ ).

В группе больных с положительным клиническим эффектом терапии Имунофаном уровень ИЛ-8 в носоглоточном смыве после лечения коррелировал с относительным количеством нейтрофилов в назальном секрете. Была установлена прямая корреляционная связь ( $r_s = 0,5$ ,  $p < 0,05$ ).

## Обсуждение

Выявленная местная продукция некоторых цитокинов у здоровых детей позволила сделать предположение о нормальной адекватной реакции иммунной системы на постоянную антигенную нагрузку на уровне слизистых носа и носоглотки.

Снижение местной секреции некоторых цитокинов (ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-10 и GM-CSF) в очаге воспаления, выявленное у больных хроническим аденоидитом по сравнению с группой здоровых лиц, позволило предположить наличие местной иммунологической недостаточности, которая может быть причиной неэффективности иммунного ответа и перехода процесса в хроническую форму.

В выделенных клинических группах были выявлены достоверные различия только в уровне ИЛ-8 в носоглоточных смывах пациентов. Повышение данного цитокина отмечалось в группе больных хроническим аденоидитом, протекавшим без гипертрофии глоточной миндалины. Анализ

цитокинового профиля у больных с различной степенью гипертрофии глоточной миндалины позволил предположить нарушение адекватности иммунного ответа у больных с гипертрофией глоточной миндалины 2-й и 3-й степени. Только у пациентов данной группы было выявлено статистически достоверное различие в уровне ИЛ-8 по сравнению с уровнем в группе без гипертрофии глоточной миндалины. Кроме этого у пациентов с гипертрофией глоточной миндалины 2-й степени было выявлено достоверное снижение хемокина ИЛ-8 по сравнению с нормой.

Статистически достоверных различий в средних значениях индексов воспаления, ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-10, в выделенных клинических группах выявлено не было (табл. 1, 2).

Но динамика местного цитокинового профиля до и после лечения показала наличие вполне определенной связи между клиническим эффектом терапии Имунофаном и исходным состоянием локальной цитокиновой сети. Анализ исходных значений концентрации цитокинов в носоглоточных смывах больных в группах с разной клинической эффективностью показал, что терапевтический эффект Имунофана был наиболее выражен у пациентов с исходным преобладанием Th1 иммунного ответа и клеточного типа реакций иммунитета в очаге воспаления.

Следует отметить, что в группе больных с отрицательным клиническим эффектом было выявлено более высокое суммарное содержание провоспалительных цитокинов в носоглоточных смывах больных. Данное отличие было связано, преимущественно, с более высоким значением уровня ИЛ-6 в носоглоточных смывах больных данной группы.

## Заключение

Таким образом, проведенные исследования показали, что у больных хроническим аденоидитом были выявлены признаки местной иммунологической недостаточности, которые проявлялись в снижении местной секреции ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-10 и GM-CSF и были расценены как показание для назначения местной иммунотерапии.

Анализ цитокинового профиля у больных с различной степенью гипертрофии глоточной миндалины, проведенный корреляционный анализ позволил предположить более выраженное нарушение адекватности иммунного ответа у больных с выраженной гипертрофией глоточной миндалины, которое было более устойчиво к местной монотерапии Имунофаном по сравнению с изменениями местного цитокинового профиля у больных с хроническим аденоидитом, протекавшим без выраженной гипертрофии глоточной миндалины.

Динамика клинических симптомов и изменений в локальной цитокиновой сети показала,

что клинический эффект терапии Имунофаном зависит не только от исходных клинических проявлений заболевания, но и от уровня цитокинов в носоглоточных смывах больных. Набор таких клинических и лабораторных данных как течение хронического аденоидита без гипертрофии глоточной миндалины, преобладание у пациентов местного Th1-типа иммунного ответа и клеточного типа реакций может быть использован в качестве мониторинга для назначения местной иммунотерапии препаратом Имунофан больным с хроническим аденоидитом.

## Список литературы

- Архандеев А.В. Эффективность Ультразвуковой терапии аппаратом УЗОЛ-1 в комплексном лечении хронических аденоидитов: Автореф. дис. .... канд. мед. наук. — Оренбург, 2000. — 20 с.
- Батчаев А.С. Сравнительный анализ клинической эффективности различных методов лечения хронических аденоидитов // Новости оториноларингологии и логопатологии. — 2002. — № 1 (29). — С. 43-45.
- Борзов Е.В. Факторы риска развития аденоидных вегетаций у детей // Вестн. оториноларингологии. — 2003. — № 2. — С. 22-23.
- Быкова В.П., Пискунов Г.З. Миндалины и аденоиды. IV Международный симпозиум в Генте (Бельгия) с 2-3 ноября 1999 // Рос. ринология. — 2000. — № 1. — С. 43-45.
- Вавилова В.П. Применение отечественного иммуномодулятора полиоксидония в практике лечения детей с патологией лимфоглottочного кольца // Иммунология. — 2003. — № 1. — С. 43-46.
- Гарашенко Т.И., Балаболкин И.И., Булгакова В.А., Балева Л.С., Яковлева И.Н., Моисеева Е.И., Цветков Э.А., Яблонева В.Н. Результаты многоцентрового исследования применения ИРС-19 для профилактики ЛОР-заболеваний у часто болеющих детей // Детский доктор. — 2001. — № 1. — С. 22-28.
- Гуломов С.З. Новое в лечении хронических гнойных риносинуситов // Новости оториноларингологии и логопатологии. — 2000. — № 1 (21). — С. 37-39.
- Катинас Е.Б. Клинико-иммунологическое обоснование местного применения рекомбинантных интерлейкина-1 бета и интерлейкина-2 в лечении острых гнойных синуситов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Санкт-Петербург, 2003. — 21 с.
- Кузнецова Р.Н., Тотолян А.А., Срибный И.В., Хасьянов Э.А., Лебедев В.В., Степанов О.Г. Применение регуляторного пептида имунофана в терапии хронических заболеваний верхних дыхательных путей // Сборник материалов научно-практической конференции педиатров России «Фармакотерапия в педиатрии». — Москва, 2005. — С. 91.
- Кузнецова Р.Н., Тотолян А.А., Срибный И.В., Лебедев В.В., Степанов О.Г. Опыт клинического применения новой лекарственной формы имунофана у детей с хронической патологией лимфоглottочного кольца // Мед. иммунология. — 2006. — Т. 8, № 2-3. — С. 443.
- Кузнецова Р.Н., Тотолян А.А., Джумагазиев А.А., Райский Д.В., Лебедев В.В., Тутельян А.В. Клиническая эффективность местного применения новой лекарственной формы аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина в лечении хронических аденоидитов у детей // Сборник материалов XI конгресса педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии». — Москва, 2006. — С. 358.
- Кузнецова Р.Н., Сысоев К.А., Лебедев В.В., Тутельян А.В., Тотолян А.А. Динамика цитокинового профиля у детей с хроническим аденоидитом при местном применении новой лекарственной формы препарата имунофан // Мед. иммунология. — 2007. — Т. 9, № 2-3. — С. 349.
- Кузнецова Р.Н. Локальный цитокиновый профиль у детей с хроническим аденоидитом — клинические параллели // Труды Астраханской медицинской академии. Актуальные вопросы медицины. — 2007. — Том 35 (LIX). — С. 191-193.
- Кузнецова Р.Н., Сысоев К.А., Лебедев В.В., Тутельян А.В. Иммунологические аспекты консервативной терапии хронических воспалительных процессов в лимфоидной ткани // Амбулаторная хирургия (стационарзамещающие технологии). — 2007. — № 3 (27). — С. 79-81.
- Лучихин Л.А., Мальченко О.В. Эффективность препарата Имудон в лечении больных с острыми и хроническими воспалительными заболеваниями глотки // Вестн. оториноларингологии. — 2001. — № 3. — С. 62-64.
- Маккаев Х.М. Распространенность, особенности клинических проявлений и осложнения хронических заболеваний лимфоидного глоточного кольца у детей // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. — 2002. — № 1. — С. 28-32.
- Пискунов С.З., Пискунов Г.З. Диагностика и лечение воспалительных процессов слизистой оболочки носа и околоносовых пазух. — Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 1991. — 184 с.
- Псахис Б.И. О клинических проявлениях хронического аденоидита, не сопровождающегося гипертрофией глоточной миндалины // Вестн. оториноларингологии. — 1976. — № 6. — С. 23-24.
- Тимен Г.Э., Мельников О.Ф., Хоцяновский К.А. Влияние локальной терапии на показатели местного иммунитета в ротовой части глотки у детей после тонзиллотомии // Журнал ушных, носовых и горловых хвороб. — 2000. — № 3. — С. 73-75.
- Терскова Т.Н. Особенности иммуно-воспалительного процесса при хроническом аденоидите и их терапевтическая коррекция: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Новосибирск, 2007. — 25 с.
- Цветков Э.А. Аденоидиты и их осложнения у детей. — СПб.: Элби, 2003. — 124 с.
- Kiroglu M.M., Ozbilgin K., Aydogan B., Kiroglu F., Tap O., Kaya M., Ozsahinoglu C. Adenoids and otitis media with effusion. A morphological study // Amer. J. Otolaryngol. — 1998. — Vol. 19, N 4. — P. 244-250.

поступила в редакцию 20.10.2007

отправлена на доработку 04.11.2007

принята к печати 25.03.2008