

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ГИПЕРТРОФИИ И ВОСПАЛЕНИЯ ГЛОТОЧНОЙ МИНДАЛИНЫ У ДЕТЕЙ

Зорина В.Н., Климова И.И.¹, Вышлова А.С.¹, Зорина Р.М.,
Рябичева Т.Г.², Зорин Н.А.

НИЛ иммунохимии ГОУ ДПО Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей
Росздрава, г. Новокузнецк

¹ Кафедра оториноларингологии ГОУ ДПО Новокузнецкого государственного института усовершенствования
врачей Росздрава, г. Новокузнецк

² ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск

Резюме. Исследовали уровни альфа-2-макроглобулина (МГ), иммунных комплексов МГ-IgG, содержание IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , концентрации лактоферрина (ЛФ) и альфа-1-антитрипсина (АТ) в крови детей с хроническим аденоидитом (ХА), гипертрофией глоточной миндалины (ГГМ) и у здоровых. Выявлено, что уровни МГ, МГ-IgG, АТ, IL-10 при ХА и ГГМ достоверно увеличены, по сравнению со здоровыми детьми. Кроме того, при ХА был достоверно повышен уровень ЛФ и пониженное содержание IL-6 и IL-8. Полученные данные свидетельствуют о том, что в целом изменения изученных показателей при ХА и ГГМ аналогичны. Однако, при ХА более выражена задержка в циркуляции молекул МГ, транспортирующего цитокины к клеткам, на фоне определенного недостатка IL-6 и IL-8 и явного избытка IL-10 и ЛФ, что и приводит к хронизации процесса. При ГГМ задержка молекул МГ в циркуляции менее выражена, недостатка IL-6 и IL-8 не наблюдается, уровень ЛФ достоверно не повышается, но достаточно большое количество поврежденных молекул МГ в комплексе с IgG, задержка АТ и избыток IL-10, вероятно, приводят к определенным обменным нарушениям и компенсаторному разрастанию тканей.

Ключевые слова: аденоидит, глоточная миндалина, воспаление, цитокины, белки острой фазы.

Zorina V.N., Klimova I.I., Vyshlova A.S., Zorina R.M., Riabicheva T.G., Zorin N.A.

SOME PATHOGENETIC ASPECTS OF HYPERTROPHY AND INFLAMMATION OF PHARYNGEAL TONSILS IN CHILDREN

Abstract. We have measured total levels of alpha-2-macroglobulin (α 2-MG), its immune complexes with IgG (α 2-MG-IgG), along with IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , lactoferrin (LF) and alpha-1-antitrypsin (AT) contents in blood sera of children with verified chronic adenoiditis (ChA), pharyngeal tonsil hypertrophy (PhTH), and in sera of healthy children. It was shown, that α 2-MG, α 2-MG-IgG, AT, IL-10 serum concentrations in ChA and PhTH were significantly increased in comparison with appropriate values in healthy children. Moreover, we have detected significant increase in LF, and slight decrease of IL-6 and IL-8 contents in sera of ChA patients. All general trends of detected changes were similar for both diseases, but some changes proved to be differently expressed. In ChA, however, we found higher levels of circulating

α 2-MG molecules in circulation, some deficiency in IL-6 and IL-8, and significant abundance of IL-10 and LF at the beginning of ChA, thus resulting into a chronic disorder. In PhTH patients, there was no such remarkable abundance of α 2-MG and LF in circulation, and no deficiency in IL-6 and IL-8, but higher levels of damaged α 2-MG molecules complexing with IgG, total α 2-MG, AT and IL-10

Адрес для переписки:

Зориной В.Н.

654005, г. Новокузнецк, Кемеровская обл.,
пр. Строителей, д. 5, ГОУ ДПО НГИУВ, лабора-
тория иммунохимии

Тел.: (3843) 45-84-18, 45-56-41.

E-mail: macroglobulin@yandex.ru

excess may provoke distinct metabolic changes and compensatory proliferation of tissues in this disorder. (*Med. Immunol.*, vol. 12, N 4-5, pp 441-446)

Keywords: adenoiditis, pharyngeal tonsil, inflammation, cytokines, acute phase proteins.

Введение

Хронические аденоидиты и гипертрофия глоточных миндалин относятся к наиболее распространенной патологии дошкольного и раннего школьного возраста и представляют собой одну из важнейших проблем оториноларингологии и педиатрии. По данным профилактических осмотров детей г. Новокузнецка хронические аденоидиты выявляются у $18,0 \pm 0,9\%$ детей в возрасте до 3 лет и у $9,2 \pm 0,5\%$ с 3 до 7 лет. Гипертрофии небных и носоглоточных миндалин диагностированы в данных возрастных группах соответственно у $17,4 \pm 0,46\%$ и $12,9 \pm 0,39\%$ осмотренных [6]. Воспаление глоточной миндалины является многофакторным иммунопатологическим процессом, пусковым механизмом которого является вирусная инфекция (часто с активацией персистирующих бактериальных агентов) развивающимся на фоне вторичного иммунодефицитного состояния и хронического воспалительного процесса [2]. Этиопатогенетические аспекты гипертрофии глоточной миндалины до конца не изучены, общепризнанными факторами, способствующими развитию данной патологии, являются частые респираторные инфекции и наследственная предрасположенность [1]. При этом, до сих пор, не проводилось комплексного сравнительного исследования, позволяющего на системном уровне изучить не только отдельные маркеры воспаления или некоторые про- и противовоспалительные цитокины, а всю цепочку: регуляторные цитокины — транспортирующие их белки — воспалительные реактанты, синтез которых регулируется цитокинами при хронических аденоидитах и гипертрофии глоточной миндалины.

Таким образом, целью нашей работы было изучить уровни сывороточных цитокинов (провоспалительных — IL-8 и TNF α , противовоспалительного — IL-10, иммунорегуляторного — IL-6), а также содержание транспортирующего их к клеткам альфа-2-макроглобулина (МГ), его иммунных комплексов (МГ-IgG) и некоторых других маркеров воспаления (альфа-1-антитрипсина и лактоферрина) в норме, при хроническом аденоидите и гипертрофии глоточной миндалины у детей.

Материалы и методы

Для достижения поставленной цели было обследовано 75 детей, поступивших на лечение в ЛОР-отделение МЛПУ «Зональный перинатальный центр». Все дети распределены на три группы. Критериями включения в первую группу ($n = 23$) являлось наличие верифицированного специалистами диагноза хронического аденоидита, во вторую ($n = 32$) — гипертрофии носоглоточной миндалины 2-3 степени. Контрольная группа ($n = 20$) сформирована из здоровых детей, поступивших в «Зональный перинатальный центр» на плановые операции (грыжесечение, септопластика и т.п.). Критериями исключения были: наличие воспалительных процессов в других ЛОР-органах, возраст младше 3 и старше 12 лет. Родители всех детей давали письменное информированное согласие на исследование.

В сыворотке крови определяли концентрации IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , и лактоферрина (ЛФ) методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Для установления концентраций альфа-2-макроглобулина (МГ) и альфа-1-антитрипсина (АТ) использовали метод ракетного иммуноэлектрофореза [3]. Уровни комплексов МГ-IgG оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа с авторскими модификациями [5], образцы сыворотки разводились в 40 раз. Для расчета концентраций применяли программу Microplate Manager (Bio-Rad, США). Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета биостатистики INSTAT 2.0.

Результаты и обсуждение

Нами выявлено, что уровни МГ и АТ, являющихся ингибиторами протеиназ и маркерами воспаления (причем АТ — классическим позитивным, а МГ и позитивным и негативным, в зависимости от особенностей течения процесса) у здоровых детей достаточно высоки, по сравнению с взрослыми, что согласуется с литературными данными [11]. Концентрации МГ и АТ, превышающие допустимые пределы для данной возрастной группы обнаруживались в 15% и 10% случаев. Концентрации иммуно-

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ И РЕАКТАНТОВ ОСТРОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ АДЕНОИДИТАХ И ГИПЕРТРОФИИ ГЛОТОЧНОЙ МИНДАЛИНЫ

Показатель (единица измерения)	Контрольная группа	Хронический аденоидит	Аденоидные вегетации
Альфа-2-макроглобулин (г/л)	3,95±0,32	5,02±0,21*	4,63±0,14*
Комплексы МГ-IgG (мкг/мл)	0,87±0,08	1,41±0,15*	1,56±0,12*
Альфа-1-анти-трипсин (г/л)	4,8±0,39	5,67±0,21*	5,81±0,29*
Лактоферрин (мкг/мл)	1,00±0,09	1,31±0,12*	1,02±0,07
IL-6 (пкг/мл)	3,23±0,54	2,81±2,04	3,23±0,54
IL-8 (пкг/мл)	7,01±0,9	5,52±1,06	7,08±1,22
IL-10 (пкг/мл)	9,76±2,34	18,2±3,17*	21,71±2,68*
Фактор некроза опухолей-альфа (пкг/мл)	2,48±1,21	3,01±0,86	5,07±1,28

Примечание. * – достоверные ($P \leq 0,05$) отличия от показателей контрольной группы.

комплексов МГ-IgG и уровни ЛФ были сопоставимы с нормами, установленными для взрослых доноров, превышающие данные пределы значения выявлялись не более чем у 15% обследованных. Содержание сывороточных цитокинов у здоровых детей также не демонстрировало значительных отличий от норм, установленных для взрослых, повышенные уровни IL-8 выявлены у 15% практически здоровых детей, IL-6 – у 10%, содержание TNF α и IL-10 не превышало нормативные показатели ни у одного обследованного ребенка.

При хронических аденоидитах (табл. 1) общие концентрации МГ и АТ достоверно повышались по сравнению с уровнями, характерными для здоровых ($p = 0,008$ и $p = 0,049$), превышение нормативных показателей выявлено у 57% и 43% детей соответственно. Кроме того, увеличивалось содержание иммунных комплексов МГ-IgG ($p = 0,004$) и уровень быстрореагирующего острофазового ЛФ ($p = 0,048$), концентрации выше допустимых для здоровых обнаруживались у 43% детей, при изучении обоих показателей. Изменения содержания цитокинов были не столь однозначными: статистически значимо повышалось лишь содержание IL-10 ($p = 0,043$), (повышено у 22% обследованных). В то же время, при анализе индивидуальных показателей выяснилось,

что содержание TNF α превышает предельно допустимые для здоровых уровни у 30% детей, IL-8 – у 13%, концентрации IL-6 – у 9% обследованных.

При гипертрофии глоточной миндалины уровни МГ были несколько ниже, а АТ – выше, чем при хронических аденоидитах, повышенное содержание обнаруживалось у 29% и 48% детей соответственно. Однако достоверных различий между данными группами больных не выявлено. При этом среднее содержание МГ и АТ достоверно превышало уровни, характерные для здоровых ($p = 0,033$ и $p = 0,042$). Средняя концентрация комплекса МГ-IgG также была повышенной ($p \leq 0,001$), но данное повышение выявлялось только у 20% детей. Напротив, уровень ЛФ достоверно не отличался от показателей, характерных для группы здоровых, и был выше нормативных значений только у 20% детей. Наконец изменение концентраций цитокинов в крови было сопоставимым с таковым при хроническом аденоидите: повышенные концентрации IL-10 выявлены у 16% детей, TNF α – у 26%, IL-8 – у 16%, а уровни IL-6 не превышали пределов нормы ни у одного ребенка. Однако и в этом случае высокая индивидуальная вариабельность показателей позволила выявить статистически достоверные отличия

чия средней концентрации от здоровых только в случае IL-10 ($p = 0,003$).

Однотипность выявленных нами изменений изученных показателей при хроническом аденоидите и гипертрофии глоточной миндалины позволяют предположить определенную сходность происходящих изменений, влияющих на уровни циркулирующих в крови белков.

Известно, что транспорт и презентация биологически активных пептидов (цитокинов и пр.), осуществляются преимущественно белками семейства макроглобулинов, в первую очередь МГ [4]. Нами показано, что при изученных заболеваниях избыток данного белка существенно возрастает. Однако, достоверное повышение уровней АТ, составляющего вместе с МГ свыше 90% резерва ингибиторов протеиназ в жидких средах организма, позволяет усомниться в том, что накопление МГ связано именно с усилением его регуляторно-транспортных функций при патологии лимфоглоточного кольца. Ранее установлено, что в норме для АТ характерно необратимое ингибирование активности ферментов и медленное выведение образованных комплексов из циркуляции, в то время как МГ, при реакции с протеолитическими ферментами, выбрасываемыми при воспалении, фиксирует их с сохранением исходных свойств и быстро (период полувыведения 2-3 минуты) выводится из циркуляции [4, 11]. Кроме того, биосинтез МГ активируется IL-6, а АТ (как и ЛФ) – провоспалительными цитокинами, в том числе TNF α , находящимся в оппозиционных отношениях с IL-6 [4], что и позволяет отнести МГ к негативным, а АТ – к позитивным реактантам воспалительной реакции. Мы же наблюдали одновременное повышение уровней данных белков, что позволяет предположить не интенсификацию их синтеза, а скорее, нарушения в процессе их поглощения клетками. Подобное предположение подтверждается и накоплением в крови ЛФ, инициатором биосинтеза которого является провоспалительный хемоаттрактант IL-8, учитывая, что уровень самого ЛФ, утилизируемого через те же рецепторы, что и МГ [12] повышается, а содержание IL-8 достоверно не изменяется. Еще одной причиной задержки молекул МГ, в том числе и в виде комплексов с цитокинами, в крови, является их необратимое окисление при развитии воспаления, реакции кислородного взрыва и выброса гипохлоридов и синглетного кислорода в циркуляцию [13]. Известно, что подобные реакции сопровождаются увеличени-

ем сывороточных уровней «кислого» ЛФ и иммунокомплексов МГ-IgG, состоящих из поврежденных молекул и аутоантител к ним [5], что и выявлено нами в процессе исследования. Подобные окисленные молекулы имеют низкое сродство к ЛРП рецептору – основному рецептору эндоцитоза для вышеперечисленных белков [13], кроме того, повреждающему воздействию окисления подвержен и сам ЛРП-рецептор [10]. О повреждении ЛРП-рецептора при данных заболеваниях свидетельствует увеличение уровня IL-10, часто сопровождающее его необратимое окисление [9]. В свою очередь, нарушения в доставке транспортируемых МГ цитокинов к клеткам, за счет подобных повреждений и задержки в циркуляции, объясняют и выявленный нами разброс индивидуальных показателей при изучении содержания цитокинов (за счет неадекватности либо отсутствия активации их синтеза, регулируемого другими цитокинами), и разнообразие клинических проявлений заболеваний, обусловленное нарушением своевременной передачи сигналов к клеткам. Помимо повреждения такого транспортера цитокинов как МГ, нельзя исключать и наличие врожденных дефектов их синтеза. Известно, что у людей и животных, подверженных частым бактериальным инфекциям, наблюдаются дефицит специфических нейтрофильных гранул и нарушения в экспрессии ряда генов (IL-6, IL-8 и его рецептора, пр.) подобными функционально-дефектными нейтрофилами [8]. В этой связи, обращает на себя внимание недостоверная, но заметная тенденция к снижению уровней IL-6 и IL-8, выявленная нами именно при хронических аденоидитах по сравнению со здоровыми детьми. Повышение уровней противовоспалительного IL-10, который не только стимулирует гуморальное звено иммунитета, но и снижает активность макрофагов [7], также вносит значительный вклад в развитие изученных заболеваний. Необходимо отметить, что определенное влияние на течение хронического аденоидита оказывает локальный синтез таких высокомолекулярных, и не способных, зачастую, преодолевать межтканевые барьеры белков, как МГ и, в меньшей степени, АТ и ЛФ. Известно, что ЛФ и АТ могут активно синтезироваться клетками слизистых оболочек и являются первым барьером на пути инфекции [12].

Обращает на себя внимание, что, несмотря на общую направленность изменений уровней изученных показателей, их выраженность при гипертрофии глоточной миндалины и хрони-

ческом аденоидите несколько различается. Так, при гипертрофии, в большей степени, выражено повышение АТ и TNF α , в меньшей – МГ, по сравнению с хроническим аденоидитом, нет достоверного повышения концентраций ЛФ по сравнению с нормой. Только при хронических аденоидитах отмечаются более низкие уровни IL-6 и IL-8, косвенно свидетельствующие о врожденном нарушении функционирования нейтрофилов и, как следствие, об изначально большем риске присоединения бактериальной инфекции у данной группы детей. Все это свидетельствует о ряде различий в патогенетических механизмах, приводящих, в более благоприятном случае только к разрастанию тканей, а при выраженных нарушениях – к развитию хронического воспаления в лимфоидной ткани.

Заключение

Таким образом, и при хронических аденоидитах и при гипертрофии глоточной миндалины начинает развиваться ряд процессов, со-проводящих воспаление: повышаются концентрации ряда белков, включая МГ, АТ, IL-10, происходит необратимое повреждение части молекул регуляторно-транспортного МГ и задержка комплексов МГ с IgG и другими белками в циркуляции. Однако, при формировании гипертрофии глоточных миндалин происходящие в организме изменения не приводят к серьезному срыву метаболических процессов (уровень TNF α имеет определенную тенденцию к росту, в циркуляции достаточно IL-6 и IL-8, синтез острофазового ЛФ не активируется), провоцируя лишь компенсаторное разрастание тканей без развития классической воспалительной реакции, в то время как при аденоидитах патогенная инвазия на фоне определенного недостатка IL-6 и IL-8 провоцирует неадекватное развитие воспаления (повышение ЛФ, без изменений уровней контролирующего его синтез IL-8, одновременное увеличение содержания МГ и АТ) усугубляет дисбаланс концентраций цитокинов и способствует хронизации процесса.

Список литературы

1. Борзов Е.В. Особенности функционального состояния лейкоцитов у детей с гипертрофией глоточной миндалины и хроническим аденоидитом // Лимфоэпителиальные образования

верхних дыхательных путей в норме и при патологии: Сб. науч. тр. Всероссийской конференции. – Белокураха, 2002. – С. 33-39.

2. Гарашенко Т.И., Богомилский М.Р., Маркова Т.П., Радциг Е.Ю., Стребкова О.А. Бактериальные иммунокорректоры в профилактике заболеваний верхних дыхательных путей и уха у часто болеющих детей // Лимфоэпителиальные образования верхних дыхательных путей в норме и при патологии: Сб. науч. тр. Всероссийской конференции. – Белокураха, 2002. – С. 43-61.

3. Зорин Н.А., Жабин С.Г., Лыкова, О.Ф., Зорина Р.М., Горин В.С., Белогорлова Т.И., Чирикова Т.И., Краюшкина Н.А. Белки плазмы и сыворотки крови доноров // Клин. лаб. диагн. – 1992. – № 9-10. – С.13-15.

4. Зорин Н.А., Зорина В.Н., Зорина Р.М. Универсальный модулятор цитокинов α 2-макроглобулин (Обзор литературы) // Иммунология. – 2004. – Т. 25, № 5. – С. 302-304.

5. Зорина В.Н., Зорина Р.М., Левченко В.Г., Воронина Е.А, Зорин Н.А. Концентрация комплексов макроглобулин – IgG, как возможный критерий для прогнозирования гестоза и оценки степени его тяжести// Клин. лаб. диагн. – 2001. – № 8. – С. 48-49.

6. Климова И.И., Баженов Д.В., Ватолина Е.Н. Распространенность оториноларингологической патологии у детей крупного промышленного города Сибири // Материалы XIII Конгресса педиатров России. – Томск, 2009. – С. 65.

7. Ярилин А.А. Основы Иммунологии. – М.: Медицина, 1999. – 608 с.

8. Gombart A.F., Krug U., O'Kelly J., An E., Vegesna V., Koeffler H.P. Aberrant expression of neutrophil and macrophage-related genes in a murine model for human neutrophil-specific granule deficiency // J. Leukoc. Biol. – 2005. – Vol. 78(5). – P. 1153-1165.

9. Li Y., Gerbod-Giannone M.C., Seitz H., Cui D., Thorp E., Tall A.R., Matsushima G.K., Tabas I. Cholesterol-induced apoptotic macrophages elicit an inflammatory response in phagocytes, which is partially attenuated by the Mer receptor // J. Biol. Chem. – 2006. – Vol. 281(10). – P. 6707-6717.

10. Orem A., Cimsit G., Deger O., Vanizor B., Karahan S.C. Autoantibodies against oxidatively modified low-density lipoprotein in patients with Behcet's disease // Dermatology. – 1999. – Vol. 198(3). – P. 243-246.

11. Petersen C.M. Alpha 2-macroglobulin and pregnancy zone protein/ Serum level, Alpha

2-macroglobuline receptors, cellular synthesis and aspects of function relation to immunology.// Dan. Med. Bull. – 1993. – Vol. 40. – P. 409-446.

12. Pierce A., Legrand D., Mazurier J. Lactoferrin: a multifunctional pro-teiin //Med. Sci. (Paris) – 2009. – Vol. 25(4) – P.361-369

13. Wu S.M., Pizzo S.V. Mechanism of hypochlorite-mediated inactivation of proteinase inhibition by alpha 2-macroglobulin // Biochemistry – 1999. – Vol. 38(42). – P. 13983-13990.

поступила в редакцию 01.03.2010

принята к печати 08.03.2010