

Вміст аферентних та ефекторних клітин імунної системи регуляторних цитокінів у піднебінних мигдаликах дітей при гіпертрофії та хронічному тонзиліті

О.Ф. Мельников¹, О.Ю. Бредун², М.Д. Тимченко¹, С.О. Бредун²

¹ДУ Інститут отоларингології імені проф. О.С. Коломійченка НАМН України;

²Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України;
e-mail: elenamelnikova@gmail.com; alexbredun@gmail.com

Досліджували стан аферентних і ефекторних клітин, активність продукції регуляторних цитокінів in vitro. Визначали відносний вміст дендритних клітин (CD80), макрофагів (CD14), імуноглобулінів А (IgA)-антитілопродукцентів, В-лімфоцитів (CD20), природних цитолітичних клітин (CD 16), а також продукцію цитокінів: інтерлейкіну-4 і γ-інтерферону. Клітинні суспензії отримані з піднебінних мигдаликів 22 дітей при проведенні відповідних оперативних втручань при гіпертрофії та хронічному тонзиліті. Кількість дендритних клітин у піднебінних мигдаликах дітей з гіпертрофією та хронічним тонзилітом було приблизно рівним – 23,0 та 23,5%, тоді як макрофаги переважали при хронічному тонзиліті (12,8 та 8% відповідно). IgA-продукцентів було більше у разі гіпертрофії – 22,4%, ніж з хронічного тонзиліту – 9,3%, як і В-лімфоцитів – 29,0 та 23,8% відповідно. Вміст природних цитолітичних клітин виявився більшим при хронічному тонзиліті, ніж при гіпертрофії – 18,0 та 12,0% відповідно. Продукція γ-інтерферону переважала при гіпертрофії (33 пг/мл), а при хронічному тонзиліті була меншою – (10 пг/мл). Результати досліджень свідчать про більш високий клітинний і гуморальний імунологічний потенціал клітин піднебінних мигдаликів у дітей при гіпертрофії порівняно з хронічним тонзилітом, причому ця тенденція зберігається як на рівні факторів специфічного, так і вродженого імунітету.

Ключові слова: піднебінні мигдалики; гіпертрофія; хронічний тонзиліт; імунологічний потенціал; цитокіни.

ВСТУП

У розробці нових теоретичних положень щодо суті патофізіологічних процесів у лімфоїдній тканині, в тому числі і в піднебінних мигдаликах при їхній гіпертрофії та запаленні, істотна роль відводиться дослідженню стану сприймаючих (аферентних) і реалізуючих (ефекторних) механізмів [1-3]. Дані досліджень з теоретичних аспектів функціонування піднебінних мигдаликів в умовах їхньої гіпертрофії та хронічного запалення можуть сприяти створенню нових технологій лікування цих процесів у дитячому віці. Відомо, що структурні і функціональні зміни

в піднебінних мигдаликах дітей при гіпертрофії та хронічному запаленні відрізняються за клітинною щільністю тканини, кількістю сполучнотканинних елементів [4, 5], активністю функціональних груп імунокомпетентних клітин, цитокінопродукції, включаючи інтерферони [6-8]. Аналізуючи дані наукової літератури, неважко дійти висновку, що функціональний стан клітин піднебінних мигдаликів при зазначених захворюваннях є відображенням тих структурних змін, які відбуваються в самій їхній тканині. Це опосередковано підтверджується в роботах останніх років, в яких зроблені спроби визна-

чити ступінь ураження тканини піднебінних мигдаликів при гіпертрофії та хронічному запаленні та провести корелятивні зв'язки з відображенням основних відхилень в системному імунітеті для обґрунтування вибору методу лікування - консервативного або оперативного [9].

Метою нашої роботи було визначити стан клітинної аферентної ланки тканини піднебінних мигдаликів за кількістю зрілих дендритних клітин, макрофагів і еферентних клітин за вмістом IgA-антитілопродуцентів, природних цитолітичних клітин (ПЦК), В-лімфоцитів за CD20, а також за продукцією в культурі клітин регуляторних цитокінів, що виробляються Th-1 лімфоцитами (γ -інтерферон) і Th-2 лімфоцитами, які утворюють інтерлейкін (ІЛ)-4 (цитокін з проалергічною спрямованістю).

МЕТОДИКА

Матеріалом досліджень були шматочки лімфоїдної тканини піднебінних мигдаликів дітей віком від 5 до 8 років, яким за показаннями була проведена тонзилотомія при гіпертрофії або тонзилектомія при хронічному тонзиліті. Всього було отримано 22 зразка від 12 хворих з гіпертрофією і 10 з хронічним тонзилітом. Клітинні суспензії з лімфоїдної тканини отримували, застосовуючи середовище 199 («Пан Еко», Росія) із збагаченням (100-кратні концентрати амінокислот і вітамінів, «Serva», Німеччина), ембріональна теляча сироватка (ЕТС до 5%, «Serva» Німеччина), L-глутамін 290 мкг/мл («Пан Еко», Росія), гентаміцин 40 мкг/мл («Здоров'я», Україна) [2].

Дендритні клітини визначали імунофлюоресцентним методом, застосовуючи антитіла до CD 80, мічені ФІТЦ («Сорбент Лтд», Росія) та люмінесцентний мікроскоп Olympus (Японія). У дублюючому варіанті підраховували клітини, що світяться (на 200 клітин), і визначали відсотковий вміст CD80⁺-клітин. Аналогічним чином підраховували кількість клітин, що утворюють IgA (реактиви «Мед-

гамаль», Росія). Відносний вміст В-лімфоцитів, макрофагів і ПЦК підраховували із застосуванням розеткового тесту [10] та моноклональних антитіл до CD14 (макрофаги) до CD16 (ПЦК), до CD-20 (В-лімфоцити; реактиви лабораторії імунології Вітебського медичного університету, Білорусь). Крім того, в надосадковій рідині добової культури клітин мигдаликів визначали концентрацію ІЛ-4 і γ -інтерферону з використанням реактивів «Цитокін» (Росія) та імуноферментного аналізатора Lab line (Австрія). Статистичну обробку результатів проведено з використанням непараметричного критерію «U» - Віл-коксона [11] в програмі WinPEPI.

При виконанні досліджень було дотримано принципів біоетики та законодавчих норм та вимог щодо проведення біомедичних досліджень, а саме: Гельсінської декларації (2000), Конституції (1996) та Цивільного кодексу України (2006), Основ законодавства України про охорону здоров'я (1992), Настанови з клінічних досліджень МОЗ України № 42-7.0:2005 «Лікарські засоби. Належна клінічна практика» (2005), Наказу МОЗ України № 66 «Про затвердження порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і типового положення про комісію з питань етики» (2006), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006), що підтверджено відповідним висновком етичного комітету НМАПО імені П.Л. Шупика (2015).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Було визначено, що за вмістом дендритних клітин піднебінні мигдалики при гіпертрофії і хронічному тонзиліті практично не відрізнялися між собою (рис.1).

Вміст IgA-антитілопродуцентів і В-лімфоцитів у піднебінних мигдаликах обстежених груп було різним. Так, число клітин-антитілопродуцентів у дітей з хронічним тонзилітом було в 2,3 раза менше ($P < 0,05$), ніж при гіпер-

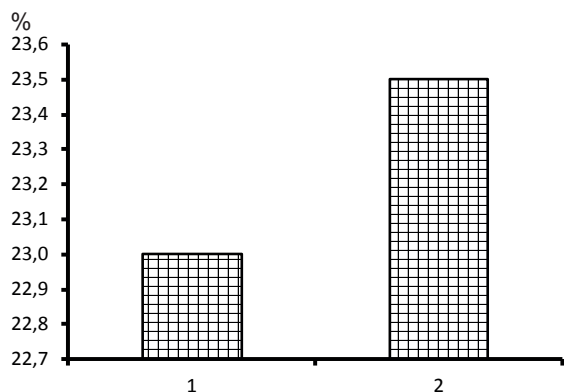


Рис.1 Відносний вміст дендритних клітин у мигдаликах дітей з хронічним тонзилітом (1) і гіпертрофією піднебінних мигдаликів (2)

трофії. При визначенні кількості макрофагів і ПЦК було встановлено підвищений вміст як макрофагів, так і тканинних ПЦК ($P < 0,05$) у хворих з хронічним тонзилітом порівняно з гіпертрофією (таблиця).

Була виявлена тенденція ($P = 0,04$) до більш високої продукції γ -інтерферону і, в

меншій кількості ІЛ-4 ($P > 0,07$), клітинами мигдаликів дітей з гіпертрофією порівняно з хронічним тонзилітом (рис.2).

Таким чином, аферентна ланка, що представлена дендритними клітинами ($CD80^+$), в піднебінних мигдаликах з гіпертрофією мало відрізняється від значень при хронічному тонзиліті. Водночас макрофагальна частина аферентної ланки ($CD14$) у разі хронічного тонзиліту за своєю кількісною характеристикою перевершує таку при гіпертрофії. Що стосується специфічної ефektorної ланки у вигляді ІgА-антитілопродуцентів і В-лімфоцитів, то важливо відзначити, що піднебінні мигдалики при хронічному тонзиліті у дітей мають меншу кількість ефektorних клітин, що відносяться до гуморальної частини імунітету. Неспецифічна частина ефektorних клітин, представлена тканинними ПЦК, більш виражена при хронічному тонзиліті, що підтверджує дані, отримані раніше [6, 13]. Клітини піднебінних мигдаликів дітей

Вміст клітин (%) імуноглобулін-А-продуцентів, В-лімфоцитів, макрофагів і тканинних природних цитолітичних клітин у клітинних суспензіях піднебінних мигдаликів при гіпертрофії та хронічному тонзиліті.

Показник	Гіпертрофія	Хронічний тонзиліт
Клітини-IgA-продуценти	22,4 (14-30)	9,3 (6-12)*
В-лімфоцитів (CD20)	29,0 (25-34)	23,8 (6-30)**
Макрофаги (CD14)	8,0 (4-12)	12,8 (10-19)*
Природні цитолітичні клітини (CD16)	12,0 (5-14)	18,0 (10-30)***

Примітка: в дужках вказані межі коливань; (min; max);

* $P < 0,05$; ** $0,1 < P > 0,05$; *** $P = 0,05$

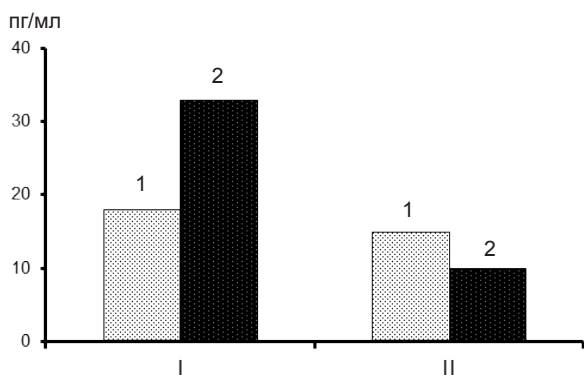


Рис.2. Вміст інтерлейкіну-4 (1) та γ -інтерферону (2) в культуральній рідині після інкубації клітин мигдаликів дітей з гіпертрофією (I) та хронічним тонзилітом (II)

з гіпертрофією більш активно продукують γ -інтерферон, ніж при хронічному тонзиліті, що узгоджується з даними про низьку продукцію противірусних факторів клітинами мигдаликів при останній патології [7].

Проведені дослідження свідчать про більш високий клітинний і гуморальний імунологічний потенціал клітин піднебінних мигдаликів у дітей з гіпертрофією порівняно з хронічним тонзилітом, причому ця тенденція зберігається як на рівні факторів специфічного, так і вродженого імунітету.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

**О.Ф. Мельников, А.Ю. Бредун,
М.Д. Тимченко, С.А. Бредун**

**СОДЕРЖАНИЕ АФФЕРЕНТНЫХ
И ЭФФЕКТОРНЫХ КЛЕТОК ИМУННОЙ
СИСТЕМЫ РЕГУЛЯТОРНЫХ ЦИТОКИ-
НОВ В НЕБНЫХ МИНДАЛИНАХ ДЕТЕЙ
ПРИ ГИПЕРТРОФИИ И ХРОНИЧЕСКОМ
ТОНЗИЛЛИТЕ**

Определяли относительное содержание дендритных клеток (CD80⁺), макрофагов (CD14), иммуноглобулин А (IgA) - антителопродукторов, В-лимфоцитов (CD20), естественных цитолитических клеток (CD16), а также продукцию цитокинов: интерлейкина-4 и γ -интерферона. Клеточные взвеси получены из небных миндалин 22 детей при проведении соответствующих оперативных вмешательств на миндалинах с гипертрофией и хроническим тонзиллитом. Количество дендритных клеток в миндалинах детей с гипертрофией и хроническим тонзиллитом было примерно равным, тогда как макрофаги преобладали при хроническом тонзиллите. IgA -антителопродукторов и В-лимфоцитов было больше в миндалинах с гипертрофией, а естественных цитолитических клеток при хроническом тонзиллите. Продукция γ -интерферона преобладала при гипертрофии небных миндалин. Исследования свидетельствуют о более высоком клеточном и гуморальном иммунологическом потенциале клеток миндалин при гипертрофии у детей по сравнению с хроническим тонзиллитом, причем данная тенденция сохраняется как на уровне факторов специфического, так и врожденного иммунитета.

Ключевые слова: небные миндалины; гипертрофия; хронический тонзиллит; иммунологический потенциал; цитокины.

О.Melnykov¹, O.Bredun², M.Timchenko¹, S.Bredun²

**CONTENT OF AFFERENT AND EFFECTORS
CELLS, REGULATORY CYTOKINES
OF HYPERTROPHY AND CHRONIC
INFLAMMATION PALATINE TONSILS IN
CHILDREN WERE ESTIMATED**

The relative content of dendritic cells (CD80⁺), macrophages (CD14), IgA antibody, B-lymphocytes (CD20), natural killer

cells (CD16), and cytokine production: interleukin-4 and γ -interferon were determined. Cell suspensions were obtained from palatine tonsils of 22 children when conducting appropriate surgical interventions on the tonsils with hypertrophy and chronic tonsillitis. Statistical analysis of nonparametric criterion was used. The number of dendritic cells in the tonsils of children with hypertrophy and chronic tonsillitis was approximately equal, while macrophages were predominant in chronic tonsillitis. IgA-producing and B-lymphocytes were greater in the tonsils with hypertrophy, and NK-cells in chronic tonsillitis. The production of γ -interferon prevailed in the hypertrophy. Studies show a higher cellular and humoral immunological potential of tonsils cells in children with hypertrophy compared with chronic tonsillitis, and this trend is maintained both at the level of factors of specific and congenital immunity.

Key words: tonsils; hypertrophy; chronic tonsillitis; immunologic potential; cytokines.

¹State Institution "Institute of Otolaryngology

O.S. Kolomychenko NAMS of Ukraine ", Kyiv;

²Shupyk National Medical Academy of Postgraduate

Education, Kyiv.

REFERENCES

1. Abaturov O, Kruchko T, Agafonova O, Didiatkovsky B, Ostapenko V, Kolenko I. Pathogenetic bases of development and possibilities of medical correction of infectious process in pediatric practice. Kyiv: Julia print. 2016. [Ukrainian].
2. Melnykov O, Zabolotny D, Kischuk V, Bredun O, Rylska O. Immunology of chronic tonsillitis. Kyiv: Logos. 2017. [Russian].
3. Brandtzaeg P. Immune Function of Nasoharyngeal Lymphoid Tissue. Recent Advances in Tonsils & Mucosal Barriers of the Upper Airways. JRL. 2010; 72: 18-22.
4. Fedotov A. Morphological histochemical aspects of pathogenesis of chronic tonsillitis. Dis Doctor of Medical Sciences. Kiev. 1969. [Russian].
5. Bredun O. Electron-microscopic features of the structure of the palatine tonsils in their various states in childhood. Otolaryngology. Eastern Eur. 2015; 1(18): 78-83. [Russian].
6. Melnykov O. Immunological aspects of the genesis of chronic tonsillitis and regulation of the functional activity of the palatine tonsils. Diss. Doctor of Medicine Science. 14.00.16. Kiev. Institute of Physiology, Acad Sci Ukr SSR. 1981; 294. [Russian].
7. Bernstein J, Rich G, Odzimec C, Ballow M. Are thymus-derived lymphocytes defective un nasopharyngeal and palatine tonsils of children? Head & Neck Surgery. 1994; 109(4): 693-700.
8. Yamanaka N. Moving Towards a new Era in the Research & mucosal Barriers. Recent Advances in Tonsils & Mucosal Barriers of the Upper Airways. JRL. 2010; 72: 16-18.
9. Gerasimyuk M. Changes in the subpopulation composition

- of blood lymphocytes and their correlation with the elements of the cytokine spectrum under different methods of treatment of patients with chronic tonsillitis. Diss. Candidat of Medicine Science. 14.01.19. Kyiv. Institute of Otorhinolaryngology, Acad Sci Ukr Kyiv. 2017; 187. [Ukrainian].
10. Novikov D, Novikov P. Method for the determination of T and B lymphocyte diagnostics based on monoclonal antibodies. Immunology. 2000; 2: 31-33. [Russian].
 11. Gubler E. Informatics in pathology, clinical medicine and pediatrics. Leningrad. Medicine. 1999. [Russian].
 12. Melnykov O, Kupchik O, Zabolotnaya D, Veres V, Shmatko V. Local clinical and immunological status in inflammatory diseases of the nasal and oral parts of the pharynx. J Ear, Nose and Throat Diseases. 2000; 2: 5-9. [Russian].
 13. Melnykov O, Zabolotnaya D. Modern approaches to the conservative treatment of chronic tonsillitis. Kyiv. 2012. [Russian].
 14. Melnykov O, Zabolotna D, Peleshenko N, Rylska O. Concept of local ethiologically appropriative vaccination. Proc. of 8th Intern. Symposium of Tonsils and Mucosal Barriers of the Upper Airways. Zurich, 2013; 16: 32.

*Матеріал надійшов
до редакції 11.10.2018*