

Песчаный Владимир Григорьевич

кандидат медицинских наук,
врач-оториноларинголог,
ЗАО «Центр аллергии и иммунологии»

peschanyvladimir35@rambler.ru

Vladimir G. Peschany

Candidate of medical sciences,
otorhinolaryngologist
CJSC Center of an Allergy and Immunology

peschanyvladimir35@rambler.ru

**ОЦЕНКА ИММУНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ
ТЕРАПИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТОНЗИЛЛИТЕ
В ОТДАЛЁННОМ ПЕРИОДЕ**

**ASSESSMENT OF IMMUNOTROPICAL PROPERTIES OF
PHOTODYNAMIC THERAPY AT THE CHRONIC TONSILLITIS IN THE
REMOTE SEASON**

***Аннотация.** Автором изучены отдалённые клинические и системные иммунологические эффекты фотодинамической терапии при хроническом тонзиллите у детей. В основе методики лежит сочетание низкоинтенсивного квазимонохроматического красного света ($\lambda_{\text{MAX}}=660$ нм) и метиленового синего. Пациентам провели три курса лечения с регулярной оценкой состояния системного иммунитета. После каждого из двух курсов терапии у всех детей наблюдались быстрый регресс симптомов хронического воспаления, коррекция и постепенная нормализация иммунного и цитокинового статуса. Через год у всех пациентов отсутствовали рецидивы и местные симптомы заболевания, проявления тонзиллогенной интоксикации, иммунологические показатели изменились незначительно и приближались к средним значениям нормы. Под влиянием 3 профилактического курса терапии происходила дальнейшая коррекция и нормализация параметров системного иммунитета. Подтверждены отдалённые системные иммуностропные эффекты предлагаемой методики при лечении хронического тонзиллита у детей и возможность её профилактического применения. Показана актуальность использования комплексного иммунологического обследования для диагностики и оценки эффективности терапии данного заболевания.*

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, красный свет, метиленовый синий, хронический тонзиллит, отдалённые иммуностропные эффекты.

Annotation. *By the author are studied remote clinical and system immunological effects of photodynamic therapy at a chronic tonsillitis at children. The technique is based on a combination of low intensive quasimonochromatic red*

light ($\lambda_{MAX}=660$ nm) and methylene blue. To patients have made three courses of treatment c a regular assessment of a state of system immunity. After each of two courses of therapy at all children was observed fast regress of symptoms of a chronic inflammation, correction and gradual normalisation of immune and cytokines status. In a year at all patients did not have relapses and local symptoms of disease, manifestations of tonsillogenic intoxication, immunological indexes have variated slightly and came nearer to average values of norm. Under the influence of the third prophylactic course of therapy there was a further correction and normalisation of parameters of system immunity. Are confirmed remote system immunotropical effects of an offered technique at treatment of a chronic tonsillitis at children and possibility of its prophylactic application. The urgency of use complex immunological inspections for diagnostics and an assessment of efficacy therapy of the present disease is shown.

Key words: *photodynamic therapy, red light, methylene blue, chronic tonsillitis, remote immunotropical effects.*

Проблема повышения качества диагностики и консервативного лечения хронического тонзиллита (ХТ) занимает одно из ведущих мест в детской оториноларингологии, а применяемые методы не всегда эффективны [1;2]. Перспективной является фотодинамическая терапия (ФДТ), одна из методик основана на сочетании низкоинтенсивного красного света (НКС) и фотосенсибилизатора метиленового синего (МС), которое обладает антибактериальными и противовирусными свойствами [1; 3]. В настоящее время клиническая иммунология, как наука, быстро развивается, совершенствуются представления о роли иммунных, эффекторных клеток, цитокинов в развитии реакций системного и местного иммунитета. Значительно расширились возможности и повысилась точность лабораторной диагностики. Исследуются особенности иммунологии небных миндалин (НМ) в норме и при ХТ [1,3;4;5].

Цель исследования: изучить характер и стойкость клинических и системных иммунологических эффектов сочетания НКС и МС у детей с ХТ в отдаленном периоде.

Материалы и методы: проанализированы результаты обследования и лечения 2 групп школьников с декомпенсированной формой ХТ, проявляющейся только рецидивами ангин и общими токсико-аллергическими явлениями. У детей использовали усовершенствованную методику ФДТ (УМФДТ), основанную на освещении НМ квазимонохроматическим НКС в присутствии МС ($\lambda_{MAX}=660$ нм, $t=300$ с, $T_{курса}=10$ ежедневных процедур). В период клинической ремиссии пациентам провели три курса терапии с интервалом в ≈ 6 месяцев. Динамику регресса местных симптомов заболевания оценивали по данным регулярных ЛОР-осмотров, а характер иммунологических изменений – по результатам комплексного исследования иммунного и цитокинового профиля до и после каждого курса лечения.

В иммунологических исследованиях определяли количество лейкоцитов и лейкоцитарную формулу. Идентификацию лимфоцитов выполняли с помощью

реакций прямой или непрямой иммунофлуоресценции с моноклональными антителами на проточном цитофлуориметре. Рассчитывали относительную и абсолютную концентрации CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD16+CD56+-лимфоцитов. Уровни IgA, M, G определяли нефелометрически. При изучении фагоцитарной активности нейтрофилов по методу И.В. Нестеровой (1992) рассчитывали фагоцитарную активность, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс, абсолютный показатель поглощения, процент и индекс бактерицидности. Тест-объектом была монокультура *Staph. aureus* 209P. Кислородзависимые механизмы бактерицидности нейтрофилов оценивали с помощью спонтанного и индуцированного NBT-теста. Содержание цитокинов (IL-2, IL-4, IL-10) определяли иммуноферментным методом.

В ходе статистической обработки данных подсчитывали доверительный интервал средних величин ($X \pm m$) каждого из иммунологических показателей в динамике и достоверность их различия ($M \pm m$) [6]. При оценке изменений использовали сведения о возрастных нормах [5].

Результаты и обсуждение: до лечения местные признаки ХТ в 1-й группе сочетались с нормальными размерами НМ, а во 2-й – с их гипертрофией 2 и 3 степени. Исследование системного иммунитета выявило снижение относительного количества CD4+-лимфоцитов ($X_1=31,51\%$ в 1-й и $X_2=30,86\%$ во 2-й группе), соотношения CD4+/CD8+ ($X_1=1,16$; $X_2=1,12$), процентов фагоцитоза ($X_1=41,7$; $X_2=40,56$) и бактерицидности ($X_1=50,77$; $X_2=48,76$), а также показателей спонтанного и индуцированного NBT-теста. У 6 пациентов (у 3 в каждой группе) наблюдалась парадоксальная реакция в стимулированном NBT-тесте. Статистически достоверных отличий концентраций CD8+, CD20+, CD16+CD56+-лимфоцитов, IgA, M, G от соответствующих значений норм не установлено. Увеличение содержания провоспалительных IL-2 ($X_1=10,86$ pg/ml; $X_2=11,52$ pg/ml), IL-4 ($X_1=5,47$ pg/ml; $X_2=5,48$ pg/ml) и уменьшение значений противовоспалительного IL-10 ($X_1=2,46$ pg/ml; $X_2=2,41$ pg/ml) указывают на наличие в организме очага хронического воспаления. Полученные результаты объясняют отдельные механизмы этиопатогенеза ХТ и пути развития декомпенсации. Вероятно, один из них связан со снижением количества и активности CD4+-клеток, что приводит к нарушениям в передаче Т-хелперного сигнала и взаимодействию между различными звеньями иммунной системы. Существенное значение имеет дисбаланс в системе цитокинов с низкими значениями регуляторного IL-10 [4]. Гипертрофия НМ является компенсаторным состоянием и сопровождается изменениями иммунитета, характерными для основного заболевания. Она приводит к снижению дренажной функции, персистенции патогенной микрофлоры. Это усугубляет имеющиеся нарушения, способствует длительному течению и обострениям ХТ. Комплексное иммунологическое обследование позволяет сделать его диагностику и выбор тактики лечения более объективными.

Под влиянием 1 курса УМФДТ у детей отмечались быстрый регресс местных признаков хронического воспаления и их исчезновение к 10 процедуре, уменьшение размеров НМ, а также коррекция иммунологических параметров: достоверный рост относительного ($X_1=$ с 31,51% до 38,98%; $X_2=$ с

30,86% до 39,34%) и абсолютного ($X_1 =$ с 0,71 до $0,89 \times 10^9$ /л; $X_2 =$ с 0,79 до $1,03 \times 10^9$ /л) количества CD4+-лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса ($X_1 =$ с 1,16 до 1,5; $X_2 =$ 1,12 до 1,49), процентов фагоцитоза ($X_1 =$ с 41,7 до 57,1; $X_2 =$ с 40,56 до 56,72) и бактерицидности ($X_1 =$ с 50,77 до 60,11; $X_2 =$ с 48,76 до 59,99), показателей метаболической активности нейтрофилов в NBT-тесте, а также снижение относительного уровня CD8+-клеток во 2 группе ($X_2 =$ с 28,02% до 26,58%). Парадоксальная реакция в стимулированном NBT-тесте отсутствовала у всех пациентов. Уменьшение концентраций IL-2 ($X_1 =$ с 10,9 до 6,9 pg/ml; $X_2 =$ с 11,52 до 7,21 pg/ml), IL-4 ($X_1 =$ с 5,47 до 3,52 pg/ml; $X_2 =$ с 5,48 до 3,39 pg/ml) и увеличение содержания IL-10 ($X_1 =$ с 2,46 до 4,74 pg/ml; $X_2 =$ с 2,41 до 4,46 pg/ml) свидетельствуют о стихании воспаления.

Таким образом, исчезновение местных признаков ХТ, особенно патологического отделяемого из лакун НМ, перераспределение субпопуляций Т-лимфоцитов с повышением количества CD4+-клеток, рост показателей функциональной активности нейтрофилов и уровня противовоспалительного IL-10, говорят об эффективности методики и увеличении активности иммунной системы. Учитывая разнообразие изменений системного и местного иммунитета при ХТ, для объективной оценки эффективности лечения целесообразно проводить комплексное иммунологическое обследование. Изучение цитокинового профиля является дополнительным методом диагностики. При его анализе необходимо оценивать направленность изменений, так как эта система очень динамична, разнообразна и представления о её работе постоянно совершенствуются. Исследование уровней про- и противовоспалительных медиаторов помогает определить направление развития воспаления и действенность терапии.

О стойкости возникающих эффектов говорит тот факт, что через полгода у всех детей отсутствовали рецидивы ангин, а отдельные признаки ХТ были только у $\approx 40\%$ из них. Одновременно происходило небольшое снижение относительного количества CD4+-лимфоцитов, соотношения CD4+/CD8+, показателей функциональной активности фагоцитов. Величина показателей, несмотря на снижение, превышала нижнюю границу нормы и значения до лечения. Отмечался некоторый рост количества про- и снижение концентрации противовоспалительного цитокинов. Однако содержание IL-2, IL-4 было ниже, а IL-10 – значительно выше значений до лечения. Это указывает на постепенный регресс воспаления. Вероятно, стойкость клинико-иммунологических эффектов связана с сохранением высокого уровня IL-10.

Под воздействием 2 курса терапии наблюдались быстрое исчезновение имевшихся признаков ХТ, уменьшение размеров НМ и дальнейшая нормализация показателей системного иммунитета с их приближением к средним значениям нормы: повышение относительных и абсолютных концентраций CD3+ ($X_1 =$ с 68,98% до 70,78% в 1-й и $X_2 =$ с 68,92% до 70,68%; $X_2 =$ с $1,84$ до $1,95 \times 10^9$ /л во 2-й группе), CD4+-лимфоцитов ($X_1 =$ с 36,73% до 39,98%; $X_2 =$ с 36,5% до 39,96%; $X_2 =$ с 0,98 до $1,1 \times 10^9$ /л), иммунорегуляторного индекса ($X_1 =$ с 1,39 до 1,56; $X_2 =$ 1,4 до 1,56), процентов фагоцитоза ($X_1 =$ с 53,55 до 58,95; $X_2 =$ с 52,38 до 58,38) и бактерицидности ($X_1 =$ с 57,23 до 61,45; $X_2 =$ с

56,12 до 60,1), параметров спонтанного и индуцированного NBT-теста, а также снижение относительного уровня CD8+-клеток во 2 группе ($X_2 =$ с 27,25% до 25,61%). Направленность изменений цитокинового профиля аналогична результатам 1 курса и согласуется с динамикой иммунного статуса: снижение количества IL-2 ($X_1 =$ с 7,25 до 5,15 pg/ml в 1-й и $X_2 =$ с 7,81 до 5,71 pg/ml во 2-й группе) и IL-4 ($X_1 =$ с 3,79 до 2,48 pg/ml, $X_2 =$ с 3,75 до 2,51 pg/ml) при одновременном росте содержания IL-10 ($X_1 =$ с 4,02 до 5,57 pg/ml, $X_2 =$ с 3,81 до 5,48 pg/ml), однако, его уровень находился в нижнем диапазоне нормы.

Таким образом, положительная клинико-иммунологическая динамика состояния детей за два курса лечения объективно констатирует высокую действенность УМФДТ, указывает на восстановление активности НМ и иммунной системы, регресс хронического воспаления. Выраженность эффектов определяется исходным состоянием и индивидуальными особенностями иммунной системы пациента, особенно уровнями CD4+-лимфоцитов и IL-10, обладающего регуляторными и иммуномодулирующими свойствами. Учитывая антибактериальные свойства сочетания НКС и МС, особенно способность воздействовать на биоплёнки, образуемые основными возбудителями ХТ, можно предположить, что клиническая эффективность методики связана с влиянием на основные звенья его этиопатогенеза: микрофлору НМ и нарушенную иммунологическую реактивность детского организма.

Для более полной оценки отдалённых эффектов, развивающихся под влиянием УМФДТ, очередное комплексное обследование детей провели через ≈ 1 год после начала лечения. У всех пациентов отсутствовали рецидивы ангина, проявления тонзиллогенной интоксикации и местные признаки ХТ. Одновременно наблюдалась небольшая коррекция показателей системного иммунитета: немного уменьшились относительное количество CD4+-лимфоцитов (на 6,7% в 1-й и 6,8% во 2-й группе), иммунорегуляторный индекс (на 9,5% и 9,6%), проценты фагоцитоза (на 8,5% и 8,4%) и бактерицидности (на 6,5% и 6,6%), показатели спонтанного и стимулированного NBT-теста, также несколько выросли уровни про- и понизилась величина противовоспалительного медиаторов. При этом все величины были близки к средним значениям нормы. Важное значение, вероятно, имеет сохранение высокого содержания CD4+-клеток и IL-10. Это доказывает стойкость возникающих эффектов и перспективность профилактического применения данной методики. Для оценки динамики состояния пациента необходимо регулярное комплексное иммунологическое обследование.

Учитывая хорошее клинико-иммунологическое состояние детей обеих групп, 3 курс лечения носил у них профилактический характер. После него отмечалась дальнейшая нормализация иммунологических показателей: достоверное увеличение относительной (на 8,4% в 1-й и 8,7% во 2-й группе) и абсолютной (на 6,2% и 6,4%) концентраций CD4+-лимфоцитов, соотношения CD4+/CD8+ (на 8,4% и 8,7%), процентов фагоцитоза (на 10% и 11%) и бактерицидности (на 7,4% и 7,6%), параметров метаболической активности нейтрофилов в NBT-тесте, снижение относительного числа CD8+-клеток (на 2,4%) во 2-й группе. Изменения цитокинового профиля были аналогичны:

снижение числа провоспалительных IL-2 (на 17,5% и 16,1%) и IL-4 (на 24,8% и 25,3%) при одновременном повышении уровня противовоспалительного IL-10 (на 25,1% и 26,2% соответственно).

При анализе клинических и, особенно, системных иммунологических результатов проявляется сходство процессов, развивающихся после каждого из 3-х курсов УМФДТ. Максимальные изменения происходят в течение 1 курса лечения. Это указывает на регулирующий характер эффектов, возникающих под влиянием сочетания квазимонохроматического НКС и МС, и постепенное восстановление активности иммунной системы. Его воздействие на организм является многогранным, конкретные характер и механизмы происходящих процессов сложны, нами зафиксирована лишь небольшая часть изменений. В его основе могут лежать как прямое влияние света, так и реакции каскадной активации иммунокомпетентных клеток и медиаторов. Размер НМ не влияет на выраженность и стойкость эффектов.

Через 1,5 года после начала терапии у всех детей отсутствовали рецидивы ангин, проявления тонзиллогенной интоксикации и признаки ХТ. Закрепление возникших эффектов свидетельствует о действенности методики и возможности её профилактического применения. Она позволяет повысить иммунологическую реактивность пациентов и их качество жизни, снизить антигенную и фармакологическую нагрузки на организм, избежать хирургического вмешательства, что особенно актуально в детском возрасте.

Выводы:

1. Использование УМФДТ в лечении ХТ у детей приводит к нормализации их системного иммунного и цитокинового статуса, удлинению ремиссии и предотвращает рецидивы заболевания;
2. Подтверждены системные иммуностропные эффекты и эффективность данной методики в отдаленном периоде, а также возможность её профилактического применения;
3. Комплексное исследование системного иммунного и цитокинового статуса актуально употреблять для диагностики ХТ, выбора тактики лечения и оценки его эффективности;
4. Гипертрофия НМ является вторичным, компенсаторным состоянием и сопровождается иммунологическими изменениями, характерными для основного заболевания.

Литература

1. *Оториноларингология: национальное руководство / Под ред. В.Т. Пальчуна. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 1024с.*
2. *Пальчун, В.Т. Воспалительные заболевания глотки / В.Т. Пальчун, Л.А. Лучихин, А.И. Крюков. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 288с.*
3. *Песчаный, В.Г. Квантовая терапия: механизмы воздействия и особенности применения при хроническом тонзиллите // Рос. оторинолар. – 2012. – №6 (61). – С. 177-184.*
4. *Roitt, I. Immunology / I. Roitt, J. Brostoff, D. Male, etc. – Kindlington: Elsevier. 2006. – 556p.*

5. Хаитов, Р.М. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, А.А. Ярилин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 352с.

6. Герасимов, А.Н. Медицинская статистика: учебное пособие. – М.: Медицинское информационное агентство, 2007. – 480с.

Literature

1. *Otorhinolaryngology: a national management / Under the editorship of V.T. Palchun.* – М.: GEOTAR-media, 2016. – 1024p.

2. *Palchun, V.T. Inflammatory diseases of a throat / V.T. Palchun, L.A. Luchihin, A.I. Kryukov.* – М.: GEOTAR-media, 2007. – 288p.

3. *Peschany, V.G. Quantum therapy: mechanisms of influence and feature of application at a chronic tonsillitis // Russian otorhinolaryngology.* – 2012. – №6 (61). – P. 177-184.

4. *Roitt, I. Immunology / I. Roitt, J. Brostoff, D. Male, etc.* – Kindlington: Elsevier. 2006. – 556p.

5. *Haitov, R.M. Management on clinical immunology. Diagnostics of diseases of immune system: a management for doctors / R.M. Haitov, B.V. Pinegin, A.A. Yarilin.* – М.: GEOTAR-media, 2009. – 352p.

6. *Gerasimov, A.N. Medical statistics: education guidance.* – М.: Medical information agency, 2007. – 480p.