

УДК 616.322-002.2:576.8.077.3

<https://doi.org/10.18692/1810-4800-2023-4-38-47>

Особенности нетотической активности лейкоцитов у больных с хроническим тонзиллитом

А. Ю. Курбанова¹, В. И. Егоров¹, Д. В. Кассина¹, И. А. Василенко^{1,2}

¹ Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М. Ф. Владимирского, Москва, 129110, Россия

² Российский государственный университет им. А. Н. Косыгина, Москва, 117997, Россия

Доля обращений пациентов с хроническим тонзиллитом (ХТ) к врачам-оториноларингологам в амбулаторной практике составляет от 4 до 35%. Все чаще в качестве источника воспаления выступает условно-патогенная микрофлора. Усугубляющим фактором развития хронического очага воспаления является изменение активности иммунного ответа. Несколько лет назад был открыт новый механизм поведения фагоцитарных клеток человека в реализации неспецифической иммунореактивности – нетотическая трансформация нейтрофилов (НЕТоз), связанная с принятием клетками суицидального решения, при котором происходит деконцентрация хроматина и формируются нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ), которые выбрасываются в окружающие ткани для захвата патогенов и воздействия на них высокими дозами противомикробных белков и ферментов. Значение этого иммунного механизма и его роль в патогенезе ХТ остается неизученными. На сегодняшний день методы лабораторной оценки состояния здоровья пациентов с ХТ демонстрируют недостаточно высокую специфичность и точность. Остается актуальной разработка метода обследования больных ХТ, который бы позволял врачу четко устанавливать форму заболевания, подобрать лечение и адекватно оценить здоровье пациента с ХТ в период диспансерного наблюдения. Таким методом, на наш взгляд, может явиться оценка уровня НВЛ в крови и на поверхности лакун небных миндалин (НМ). Обследован 71 пациент (медиана $38 \pm 9,86$ года). Группу контроля составили 54 практически здоровых добровольца (медиана $38 \pm 10,9$ года). Активность нетотической трансформации лейкоцитов оценивали параллельно в цельной крови и мазках с поверхности лакун НМ. Полученные данные свидетельствуют о неоспоримой диагностической значимости активности нетотической трансформации клеток с учетом наличия прямой взаимосвязи с формой ХТ. Поэтому оценка уровня нетоза может быть предложена в качестве перспективного лабораторного критерия тяжести состояния пациента, прогнозирования течения заболевания и эффективности проводимого лечения.

Ключевые слова: хронический тонзиллит, небные миндалины, НЕТоз, нейтрофильные внеклеточные ловушки.

Для цитирования: Курбанова А. Ю., Егоров В. И., Кассина Д. В., Василенко И. А. Особенности нетотической активности лейкоцитов у больных с хроническим тонзиллитом. *Российская оториноларингология*. 2023;22(4):38–47. <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2023-4-38-47>

Features of NETosis activity of leukocytes in patients with chronic tonsillitis

A. Yu. Kurbanova¹, V. I. Egorov¹, D. V. Kassina¹, I. A. Vasilenko^{1,2}

¹ Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI), Moscow, 129110, Russia

² Kosygin Russian State University, Moscow, 117997, Russia

The proportion of patients with chronic tonsillitis (CT) who visit otorhinolaryngologists in outpatient practice ranges from 4 to 35%. Increasingly, opportunistic microflora acts as a source of inflammation. An aggravating factor in the development of a chronic focus of inflammation is a change in the activity of the immune response. A few years ago, a new mechanism of behavior of human phagocytic cells in the implementation of nonspecific immunoreactivity was discovered – that is, formation of neutrophil extracellular traps (NETosis), associated with the adoption of a suicidal decision by the cells, in which chromatin is deconcentrated, and neutrophil extracellular traps (NETs) are formed, which are released into the surrounding tissues for capturing pathogens and exposing them to high doses of antimicrobial proteins and enzymes. The significance of this immune mechanism and its role in the pathogenesis of CT remains unexplored. To date, laboratory methods for assessing the health status of patients with CT demonstrate insufficient specificity and accuracy. It remains relevant to develop a method for examining CT patients, which would allow the doctor to clearly establish the

form of the disease, select the treatment, and adequately assess the health of the patient with CT during the follow-up care. Such a method, in our opinion, can be an assessment of the level of NETs in the blood and on the surface of the lacunae of the palatine tonsils (PT). 71 patients (median 38 ± 9.86 years) were examined. The control group consisted of 54 practically healthy volunteers (median 38 ± 10.9 years). The NETosis activity of leukocytes was evaluated in parallel in whole blood and smears from the surface of the lacunae of the PT. The data obtained indicate the undeniable diagnostic significance of the NETosis activity, considering the presence of a direct relationship with the form of CT. Therefore, the assessment of the level of NETosis can be proposed as a promising laboratory criterion for the severity of the patient's condition, predicting the course of the disease and the effectiveness of the treatment.

Keywords: chronic tonsillitis, palatine tonsils, NETosis; neutrophil extracellular traps.

For citation: Kurbanova A. Yu., Egorov V. I., Kassina D. V., Vasilenko I. A. Features of NETosis activity of leukocytes in patients with chronic tonsillitis. *Russian Otorhinolaryngology*. 2023;22(4):38-47. <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2023-4-38-47>

Введение

Доля обращений пациентов с хроническим тонзиллитом (ХТ) к врачам-оториноларингологам в амбулаторной практике составляет от 4 до 35% [1]. ХТ несет угрозу развития тяжелых инвалидизирующих осложнений и, вызывая у больных частые обострения, снижает их социальную активность [2]. Поэтому на сегодняшний день по-прежнему остаются актуальными исследования этиологии и патогенеза ХТ. Особое значение придается разработке критериев, способных оценить стадию заболевания и быть основополагающими в выборе тактики лечения.

Наиболее изученным фактором этиопатогенеза ХТ является бета-гемолитический стрептококк группы А (БГСА) [3]. Данный возбудитель способен вызывать метатонзиллярные осложнения, такие как ревматизм, синдром токсического шока, миокардит, заболевания клапанного аппарата сердца, IgA нефропатию и т. д. Но не только БГСА представляет угрозу. Все чаще в качестве источника воспаления выступает условно-патогенная микрофлора [4]. Усугубляющим фактором развития хронического очага воспаления является изменение активности иммунного ответа. Несколько лет назад был открыт новый механизм поведения фагоцитарных клеток человека в реализации неспецифической иммунореактивности – нетотическая трансформация нейтрофилов (НЕТоз), связанная с принятием клетками суицидального решения, при котором происходит деконцентрация хроматина [5]. Нити ДНК расплетаются, связываются с антимикробными молекулами. Так формируются нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ), которые выбрасываются в окружающие ткани для захвата патогенов и воздействия на них высокими дозами противомикробных белков и ферментов.

Ранние исследования НЕТоза выявили физиологическую защитную роль данного явления. Дальнейшие работы позволили визуализировать НВЛ во всевозможных органах и тканях. Обнаруживаясь в очагах инфекции, НЕТоз за-

медляет распространение патогенов. Однако при чрезмерном образовании НВЛ, которое наблюдается как при повышенном НЕТозе, так и при дефектах механизмов их устранения, могут возникать воспалительные и аутоиммунные заболевания, а также окклюзия сосудов и протоков [6].

Значение этого иммунного механизма и его роль в патогенезе ХТ остается неизученными. Микроорганизмы все время атакуют эпителиальные барьеры верхних дыхательных путей, поэтому образование НВЛ и их устранение должны четко контролироваться организмом, чтобы избежать воспаления в этих тканях [7–10].

На сегодняшний день методы лабораторной оценки состояния здоровья пациентов с ХТ демонстрируют недостаточно высокую специфичность и точность [11]. Остается актуальной разработка метода обследования больных ХТ, который бы позволял врачу четко устанавливать форму заболевания, подобрать лечение и адекватно оценить здоровье пациента с ХТ в период диспансерного наблюдения. Таким методом, на наш взгляд, может явиться оценка уровня НВЛ в крови и на поверхности лакун НМ.

Цель исследования

Установить диагностическое значение системного и локального уровней НВЛ как одного из звеньев патогенеза различных форм ХТ.

Пациенты и методы

Обследован 71 пациент (58 женщины и 13 мужчин) в возрасте от 18 до 65 лет (медиана 38 ± 9.86 года), обратившихся за специализированной амбулаторной помощью в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского и Клинику доктора Загера (ООО «МЕГАИНФО»). Среди них у 40 человек (медиана 34 ± 10.47 года) был установлен ХТ простой формы (ХТ ПФ), у 27 человек (медиана 38 ± 8.77 года) был ХТ токсико-аллергической формы I (ХТ ТАФИ), у 4 человек (медиана 40 ± 7.72 года) ХТ – токсико-аллергической формы II (ХТ ТАФИИ).

Группу контроля составили 54 практически здоровых добровольца (30 женщин, 24 мужчины) в возрасте от 25 до 65 лет (медиана $38 \pm 10,9$ года).

Критериями включения в исследование служили: согласие пациента на участие в исследовании, возраст от 18 до 65 лет, наличие минимум двух местных признаков ХТ, ангины в анамнезе. Критерии не включения/исключения: возраст меньше 18 лет, отказ пациента от участия в исследовании, онкологические заболевания в анамнезе, ранее проводимые неоднократно курсы консервативной терапии ХТ.

Исследования были одобрены локальным этическим комитетом ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М. Ф. Владимирского» (протокол № 14 от 12 ноября 2020 года) и проводились с получением добровольного и информированного согласия пациентов.

Обследование пациентов подразумевало тщательный сбор анамнеза, определение местных признаков ХТ (отечность верхних отделов краев небных дужек; валикообразное утолщение краев передних дужек; спайки миндалин с дужками и/или треугольной складкой; казеозные пробки, густой или жидкий гной в лакунах небных миндалин; увеличение региональных лимфатических узлов, иногда умеренно болезненных при пальпации (при отсутствии других инфекционных очагов в этом регионе); результаты лабораторных исследований: клинический анализ крови, ревмопробы: антистрептолизин-О (АСЛО), С-реактивный белок (СРБ), ревматоидный фактор (РФ); бактериологический посев с поверхности небных миндалин; полимеразная цепная реакция (ПЦР) к вирусам Эпштейн–Барр (ВЭБ), герпеса 1, 2 (ВГ 1, 2) и 6 типов (ВГ6), цитомегаловирусу (ЦМВ); субпопуляционный состав лимфоцитов.

Активность нетозной трансформации лейкоцитов оценивали параллельно в цельной крови и мазках с поверхности лакун небных миндалин.

Периферическую кровь забирали в вакуумные пробирки с ЭДТА и из 2 мкл цельной крови готовили мазки по типу «монослой». Мазки окрашивали по Романовскому–Гимзе.

Далее в мазках цельной крови подсчитывали 200 клеточных структур, включая нативные неразрушенные нейтрофилы ($N_{\text{нат}}$) и НВЛ ($N_{\text{НВЛ}}$), с помощью системы автоматической микроскопии МЕКОС-Ц2 (ООО «Медицинские компьютерные системы», Россия).

Уровень НВЛ ($\%_{\text{НВЛ}}$) в мазке, отражающий долю нетотически трансформированных нейтрофилов, циркулирующих в периферической крови, рассчитывали по формуле

$$\%_{\text{НВЛ}} = N_{\text{НВЛ}} / (N_{\text{нат}} + N_{\text{НВЛ}}),$$

где $N_{\text{НВЛ}}$ – количество нейтрофильных внеклеточных ловушек; $N_{\text{нат}}$ – количество нативных нейтрофилов.

Стерильный тупфер, смоченный физраствором, вводили в лакуны НМ с последующим нанесением полученного материала на предметное стекло. Мазки окрашивали по Романовскому–Гимзе. В мазках с поверхности лакун НМ оценивали содержание продуктов нетоза (ПН) с помощью системы автоматической микроскопии МЕКОС-Ц2 объективом с увеличением $\times 50$. При обнаружении в мазке с поверхности лакун НМ ПН в количестве 0–1 структуры в поле зрения результат оценивали как норму; 2–5 – низкий уровень ПН; 6–15 структур – средний уровень, более 15 структур в поле зрения – высокий уровень ПН.

Показатель маркера, усредненный по группам, был дан в виде медианы (минимальное – максимальное значение). Полученные показатели распределяли в виде диаграммы размаха, где границами боксплота служили 25-й и 75-й процентиля, линия в середине отображала медиану, крестом отмечали среднее значение, концы «усов» – минимальные и максимальные значения. Статистические различия между выборками оценивали при помощи U-критерия Манна–Уитни. Корреляцию между $\%_{\text{НВЛ}}$ и ревмопробами, количеством нейтрофилов в крови определяли при помощи теста ранговой корреляции Спирмена. Статистическая оценка полученных результатов проводилась с помощью программы Excel, Statistica. Для определения равнозначности сравниваемых групп использовали t-критерий Стьюдента. Значимыми считались различия при $p \leq 0,05$.

Результаты

В анализах обследованных пациентов с ХТ на ПЦР ВЭБ в 13% случаев был положительный, ЦМВ и ВПГ 1, 2 типов не были выявлены, ВГ 6 типа был положительный в 5% случаев.

В бактериологическом посеве с поверхности лакун НМ у больных определялась полимикробная флора. В 87% случаев она была представлена *S. gr. viridans* $10 \cdot 5 \div 10 \cdot 7$ КОЕ/мл, который был в сочетании с *S. aureus* $10 \cdot 4 \div 10 \cdot 6$ КОЕ/мл в 26,9% случаев, *K. pneumonia* $10 \cdot 3 \div 10 \cdot 6$ КОЕ/мл в 19,2%, *S. pyogenes* $10 \cdot 6$ КОЕ/мл в 3,8%, *S. Gr. C* $10 \cdot 4$ КОЕ/мл в 3,8%, *S. agalactiae* $10 \cdot 5$ КОЕ/мл в 3,8% случаев. Также хочется отметить, что общий процент определения *S. aureus* в концентрации от $10 \cdot 2$ до $10 \cdot 6$ КОЕ/мл в посеве с поверхности лакун НМ составил 59,2% (рис. 1).

Проведенное исследование показало, что НВЛ четко представлены в мазках цельной крови и мазках с поверхности лакун небных миндалин (рис. 2). Они являют собой элементы, которые больше исходных клеток в 10–15 раз.

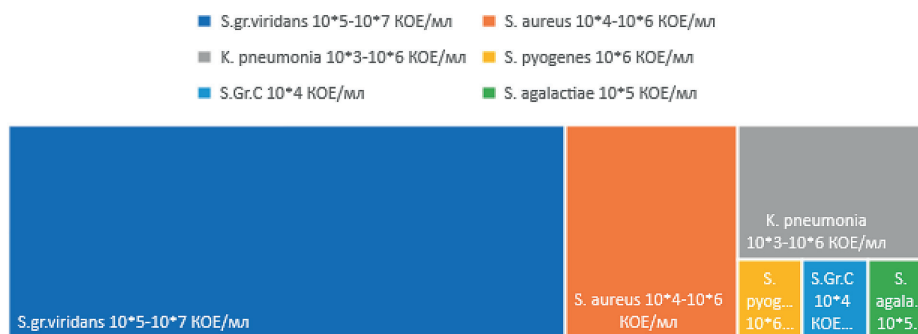


Рис. 1. Диаграмма микробного пейзажа поверхности небных миндалин пациентов с хроническим тонзиллитом
Fig. 1. Diagram of the microbial landscape of the surface of the palatine tonsils in patients with chronic tonsillitis

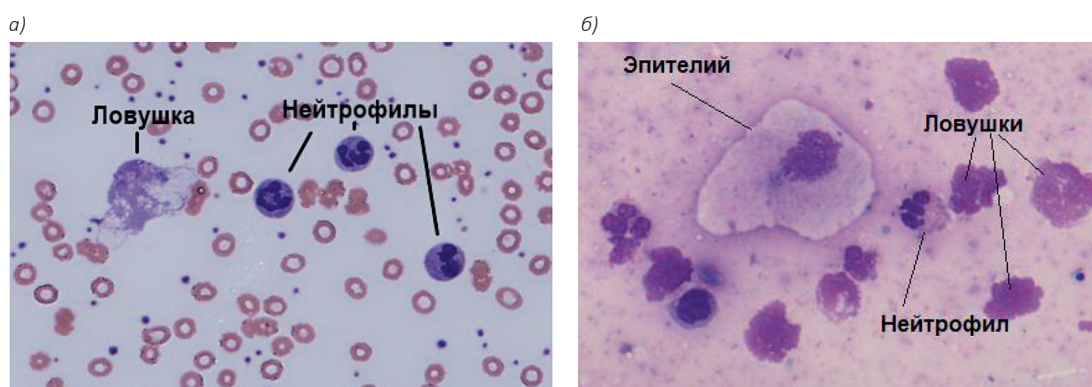


Рис. 2. Нативные и нетотически трансформированные нейтрофилы в периферической крови (а) и мазке с поверхности лакун небных миндалин (б) у больных хроническим тонзиллитом. Окрашивание по Романовскому–Гимзе. Увеличение $\times 500$
Fig. 2. Native and non-toxically transformed neutrophils in peripheral blood (a) and a smear from the surface of palatine tonsil lacunae (b) in patients with chronic tonsillitis. Romanovsky–Giemsa staining. Magnification $\times 500$

Мы установили (рис. 3), что среднее значение уровня НВЛ в мазках цельной крови здоровых доноров составило $5,71 \pm 2,53\%$, тогда как у пациентов с ХТ $\%_{\text{НВЛ}}$ был практически в 2,5 раза выше и составил $12,71 \pm 6,94\%$ ($p < 0,05$).

У больных с ХТ ПФ $\%_{\text{НВЛ}}$ составил $10,45 \pm 6,12\%$, в то время как у пациентов с ХТ ТАФІ он был на 48% выше и составил $15,51 \pm 7,29\%$, а в случаях ХТ ТАФІІ – на 57% выше, чем при ХТ ПФ, достигая $16,4 \pm 4,43\%$.

У здоровых добровольцев в мазках с поверхности лакун НМ в 64% случаев выявлено отсутствие ПН, а в 27% – их низкий уровень. У пациентов с ХТ ПН отсутствовали в 18% случаев, низкий уровень ПН был диагностирован в 32% случаев, средний – в 27%, высокий – в 23% случаев. Анализ результатов по формам ХТ установил, что при ХТ ПФ ПН отсутствовали в 27,5% случаев, были на низком уровне в 30% случаев, на среднем уровне – в 27,5%, на высоком – в 15% (табл. 1). Полученные результаты демонстрируют, что частота выявления среднего и высокого уровней ПН у пациентов с ХТ ПФ была в 4,5 раза выше, чем у здоровых доноров. При ХТ ТАФІ ПН отсутствовали лишь в 7% случаев, их низкий уровень отмечался в 41%, средний и высокий

уровень ПН – по 26% случаев, что на 20% выше, чем при ХТ ПФ. Аналогичный результат получен в группе больных с ХТ ТАФІІ: были выявлены только средний (25% случаев) и высокий (75% случаев) уровни ПН. Таким образом, установле-

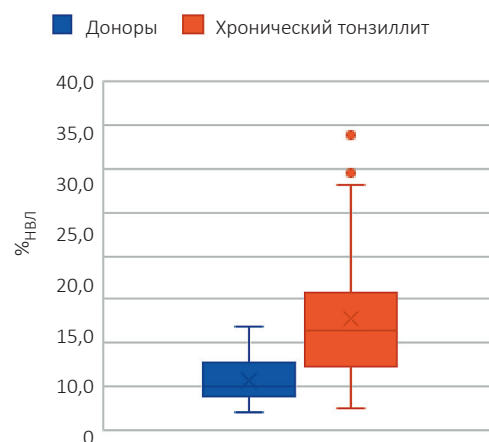


Рис. 3. Уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек ($\%_{\text{НВЛ}}$) в периферической крови практически здоровых доноров и пациентов с хроническим тонзиллитом; $p < 0,05$
Fig. 3. The level of neutrophil extracellular traps ($\%_{\text{NEL}}$) in the peripheral blood of apparently healthy donors and patients with chronic tonsillitis; $p < 0,05$

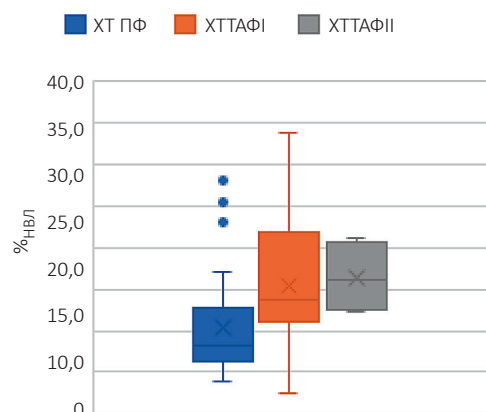


Рис. 4. Уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек (%_{НВЛ}) у пациентов с разными формами хронического тонзиллита; $p < 0,05$

Fig. 4. The level of neutrophil extracellular traps (%_{NEL}) in patients with various forms of chronic tonsillitis; $p < 0,05$

Таблица 1

Частота выявления продуктов некроза в мазках с поверхности лакун небных миндалин у практически здоровых доноров и пациентов с разными формами хронического тонзиллита

Table 1

The frequency of detection of necrosis products in smears from the surface of palatine tonsil lacunae in apparently healthy donors and patients with various forms of chronic tonsillitis

Продукты некроза	Группа пациентов				
	Доноры	Хронический тонзиллит	Хронический тонзиллит простая форма	Хронический тонзиллит токсико-аллергическая форма I	Хронический тонзиллит токсико-аллергическая форма II
Отсутствие, %	64	18	27,50	7	0
Низкий уровень, %	27	32	30	41	0
Средний уровень, %	9	27	27,50	26	25
Высокий уровень, %	0	23	15	26	75

на прямая взаимосвязь между тяжестью течения заболевания и уровнем ПН в мазках с поверхности лакун НМ.

В клиническом анализе крови обследованных больных нами не было выявлено существенных отклонений, в частности, %_{нейтрофилов} составил $58,73 \pm 8,66\%$ (норма 47–72%), СОЭ – $10 \pm 4,24$ мм/ч (норма 2–10 мм/ч мужчины, 2–15 мм/ч женщины), АСЛО – $122 \pm 96,13$ МЕ/мл (норма 0–200 МЕ/мл), РФ – $10,2 \pm 19,15$ МЕ/мл (норма 0–25 МЕ/мл), СРБ $4 \pm 2,42$ мг/л (норма 0–8,0 мг/л). При оценке субпопуляционного состава лимфоцитов также не установлено выраженных изменений клеточного иммунитета (табл. 2), что демонстрирует недостаточную диагностическую значимость традиционных лабораторных показателей в оценке тяжести пациентов.

Мы проанализировали наличие корреляции между уровнем НВЛ и полученными результатами лабораторных исследований пациентов с ХТ (рис. 5). Статистически значимых корреляций %_{НВЛ} по отношению к показателям общей группы обследованных больных выявлено не было.

Однако следует отметить, что характер взаимосвязи между анализируемыми показателями менялся с прогрессированием тяжести воспали-

тельного процесса: у больных с ХТ ТАФII установлена сильная отрицательная корреляция между %_{НВЛ} и РФ ($r = -0,79$, $p < 0,05$) и сильная положительная между %_{НВЛ} и %_{нейтрофилов} ($r = 0,79$, $p > 0,05$). Причинно-следственных связей между %_{НВЛ}, АСЛО и СРБ не выявлено, связать эти параметры с тяжестью течения заболевания не представлялось возможным.

Обсуждение

В доступной литературе приводятся многочисленные свидетельства о том, что ведущее значение в развитии ХТ обычно отводится БГСА [β -гемолитический стрептококк группы А (*Streptococcus pyogenes*)], и все осложнения могут быть связаны с вызванной им сенсibilизацией организма [3, 12]. Однако в нашем исследовании не было получено доказательств активности БГСА у пациентов представленных групп, мы визуализировали его лишь в 3,8% случаев, а анализ крови на АСЛО не выявил статистически значимых отклонений, на которые можно было бы полагаться, обосновывая патогенез ХТ. Оценка микробного пейзажа поверхности лакун НМ продемонстрировала присутствие в 87% случаев *S. gr viridans* $10 \cdot 5 \div 10 \cdot 7$ КОЕ/мл, который является предста-

Таблица 2

Показатели иммунограммы пациентов с разными формами хронического тонзиллита

Table 2

Immunogram parameters of patients with various forms of chronic tonsillitis

Название	Хронический тонзиллит простая форма	Хронический тонзиллит токсико-аллергическая форма I	Хронический тонзиллит токсико-аллергическая форма II	Хронический тонзиллит у всех	Норма
Т-л CD3+CD19- %	75,5	76	74,5	76	61–85
Т-л CD3+CD19- $10 \cdot 9/\text{л}$	1,484	1,717	1,68	1,617	0,946–2,079
Тх CD3+CD4+ %	46	48	48,5	47	35–55
Тх CD3+CD4+ $10 \cdot 9/\text{л}$	0,934	1,098	1,03	0,96	0,576–1,336
Тцл CD3+CD8+ %	28	22	24,5	25	19–35
Тцл CD3+CD8+ $10 \cdot 9/\text{л}$	0,528	0,48	0,522	0,517	0,372–0,974
ИРИ	1,717	2,13	1,979	1,793	1,500–2,600
Вл CD3-CD19+ %	11	11	11	11	7,0–17,0
Вл CD3-CD19+ $10 \cdot 9/\text{л}$	0,225	0,226	0,222	0,225	0,111–0,376
Атл CD3+HLA-DR+ %	2	2	1,5	2	0,5–6,0
Атл CD3+HLA-DR $10 \cdot 9/\text{л}$	0,041	0,044	0,031	0,041	0,007–0,165
ЛЦ HLA-DR+ %	13	13	14	13	6,0–20,0
ЛЦ HLA-DR+ $10 \cdot 9/\text{л}$	0,259	0,28	0,271	0,263	0,150–0,500
НК общ CD3-CD16+CD56+ %	11	11,5	11,5	11	8,0–18,0
НК общ CD3-CD16+CD56+ $10 \cdot 9/\text{л}$	0,204	0,238	0,256	0,224	0,123–0,369
Атк с маркерами NK CD3+cd56+ %	5	5	3	5	0,5–6,0
Атк с маркерами NK CD3+cd56+ $10 \cdot 9/\text{л}$	0,103	0,102	0,064	0,098	0,007–0,165

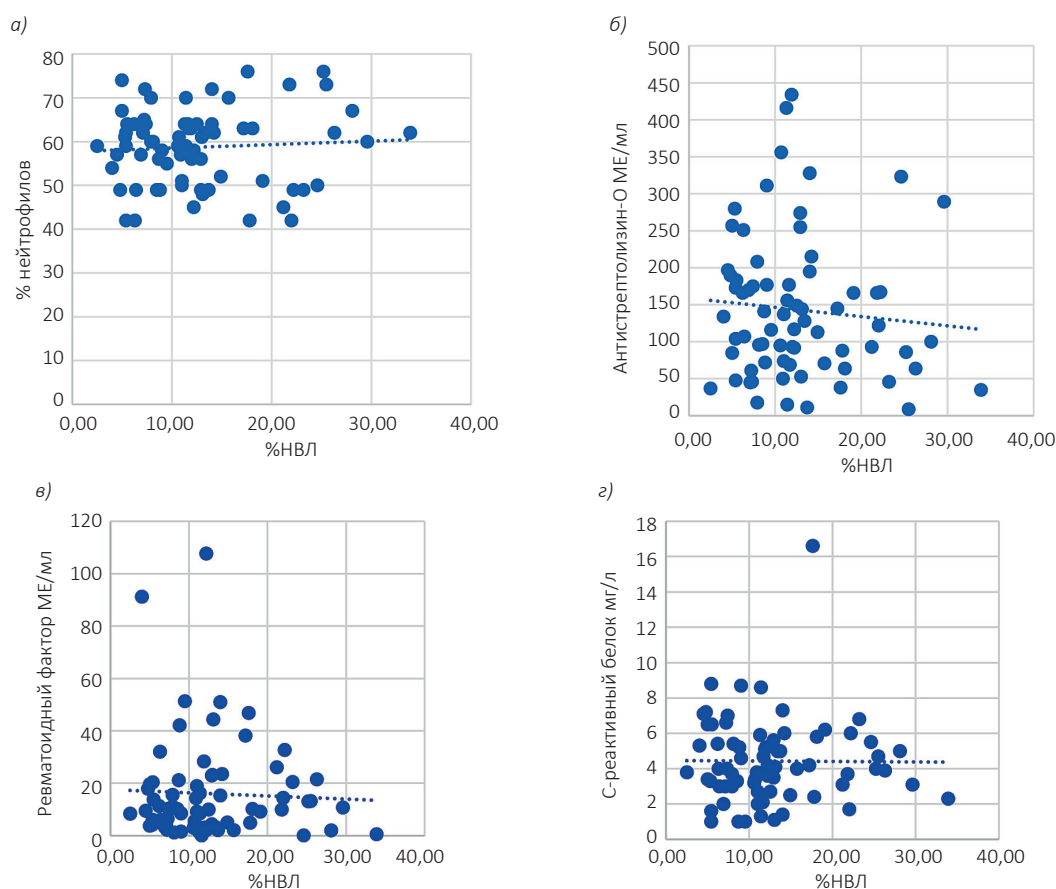


Рис. 5. Связь между уровнями нейтрофильных внеклеточных ловушек (%_{НВЛ}) и лабораторными показателями: % нейтрофилов (а), антистрептолизина-О (б); ревматоидного фактора (в); С-реактивного белка (г)

Fig. 5. The relationship between the levels of neutrophil extracellular traps (%_{NEL}) and laboratory parameters: % of neutrophils (a), antistreptolysin-O (б); rheumatoid factor (в); C-reactive protein (г)

вителем условно-патогенной микрофлоры. При этом у каждого 2-го пациента микробная флора была представлена двух- и более компонентными ассоциациями. Обращает внимание то, что в 33,5% случаев определялся *S. aureus*, присутствие которого является неизбежным фактором риска развития воспалительного процесса. Ранее проведенные исследования доказывают, что обнаружение этого возбудителя при бактериологическом посеве на поверхности лакун НМ может быть предпосылкой для миграции БГСА в глубь ткани НМ, где он способен вызывать формирование хронического очага воспаления и при этом не быть диагностирован в анализе на микрофлору [13]. Полученные нами данные не исключают такого сценария развития патологического процесса в ткани НМ.

Методы рутинных лабораторных исследований демонстрируют слишком неоднозначные результаты, чтобы рассматривать их в качестве критериев оценки объективного влияния патологического процесса на здоровье больных ХТ. Они не являются высокоспецифичными и точными [11]. Не стоит переоценивать, например, уровень АСЛО в периферической крови, поскольку нормальные показатели могут не исключать наличия болезни, в то время как повышение титров антител не всегда служит свидетелем тяжести течения ХТ [14, 15]. Поэтому данный параметр не стоит рассматривать в качестве определяющего при выборе тактики лечения [16].

Проведенная оценка субпопуляционного состава лимфоцитов у пациентов с ХТ не выявила каких-либо характерных изменений адаптивного клеточного иммунитета. Не была определена и корреляция показателей в зависимости от тяжести течения ХТ, что не согласуется с имеющимися литературными данными, где описано снижение у больных ХТ относительной и абсолютной концентрации CD3+, CD4+, CD8+ лимфоцитов, соотношения CD4+/CD8+ в крови при сохранении нормальных уровней CD16+, CD19+ лимфоцитов [17].

При этом анализ защитных механизмов врожденного иммунитета, напротив, убедительно продемонстрировал их активность в виде повышенной нетотической трансформации нейтрофилов с формированием НВЛ.

Само явление НЕТоза с момента открытия привлекло внимание ученых тем, что этот вид неспецифической иммунореактивности может лежать в основе патогенеза различных заболеваний. Бактерии, вирусы, простейшие, грибы и фармакологические агенты могут быть пусковым механизмом для формирования НВЛ. Задача НВЛ – фиксация патогенов, воздействие на них противомикробными белками и ферментами в повышенной концентрации и локализация вос-

палительного процесса с невозможностью его дальнейшего распространения [18].

К настоящему времени известны несколько путей реализации НЕТоза.

1. Классический (суицидальный) путь – запрограммированная гибель нейтрофилов с нарушением ядерной мембраны. Продолжительность НЕТоза 2–4 ч. При микроскопии имеются характерные признаки – разрушенные нейтрофилы в тканях.

2. Альтернативный путь – образование НВЛ, но без гибели нейтрофилов. Данное явление было зафиксировано при высокоразвитой инфекции *S. Aureus* на 5–60-й минуте после стимуляции раздражителем. Ученые свидетельствуют, что после НЕТоза безъядерные нейтрофилы не теряют плазму и ядерные мембраны и сохраняют способность к хемотаксису и фагоцитозу бактерий.

3. Митохондриальный путь – образование НВЛ из митохондриальной ДНК нейтрофилов при сохранении ядерной ДНК. Считается, что митохондриальные НВЛ – самый первый антимикробный механизм, позволяющий клеткам оставаться жизнеспособными и предотвращать экструзию фагоцитированных бактерий [5]. Этот механизм НЕТоза описан, но не был микроскопически запечатлен. Поэтому его реализация остается спорной на сегодняшний день.

Мощным стимулятором активации выхода НВЛ являются бактерии. Антибактериальная активность зависит от белковой структуры НВЛ, которая определяется микросредой, непосредственно окружающей клетку. Они активны в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Так, среди грамположительных бактерий *S. Aureus* может быть разрушен НВЛ за счет пероксидазной активности миелопероксидазы. При этом сам *S. Aureus* способен к продукции ДНКазы и других внеклеточных неклеаз, что разрушает ДНК сети НВЛ и, следовательно, инактивирует их.

Увеличение ПН в мазках с поверхности лакун НМ у пациентов с ХТ, в сравнении со здоровыми добровольцами, говорит нам о повышенной инфекционной нагрузке, требующей локализации очага воспаления и устранения его.

Зарегистрированные нами повышенные значения НВЛ в мазках цельной крови у пациентов с ХТ демонстрируют очевидную роль НВЛ в негативной регуляции усиливающегося системного воспаления как внетонзиллярного проявления ХТ. Неконтролируемый нетоз может приводить к избыточному появлению НВЛ, обладающих токсичными свойствами для организма человека. НВЛ содержат в себе белковые компоненты, которые ограничены внутренней частью гранул, ядра и цитоплазмы. Повышенное содержание НВЛ способно вызывать иммунизацию против собствен-

ных антигенов, прогрессирование воспалительных и развитие аутоиммунных заболеваний [6]. Проведенные в недавнем времени исследования ряда аспектов НЕТоЗа выявляли, что хроническое воспаление в полости рта, в частности пародонтит, имеет общий патогенез с ревматоидным артритом (РА) и именно повышение содержание НВЛ у этих пациентов может играть ключевую роль в развитии РА [6]. Мы сравнили наши данные с результатами вышеупомянутой работы и сделали вывод о том, что и при хроническом воспалении НМ имеется корреляция между уровнем НВЛ в периферической крови, в мазках с поверхности лакун НМ и РФ. Чем выше уровень НВЛ, тем выше РФ. Этот установленный факт позволяет предположить, что высокие значения уровня НВЛ в крови и в мазках с поверхности лакун НМ у пациентов с ХТ могут быть пусковым механизмом в развитии аутоиммунных заболеваний, а определение уровней НВЛ у больных ХТ может служить диагностическим и прогностическим критерием в амбулаторной практике врача-оториноларинголога.

Заключение

Хронический тонзиллит – инфекционно-аллергический процесс, характеризующийся проявлениями как местной, так и системной воспалительными реакциями, важную роль в развитии и прогрессировании которых играют механизмы иммунологической защиты. Нейтрофильное звено неспецифического иммунитета обеспечивает первую линию обороны от инфекционных агентов и располагает достаточным арсеналом антимикробных стратегий для локализации очага и регуляции системного воспаления.

Полученные данные свидетельствуют о неоспоримой диагностической значимости активности нетотической трансформации клеток с учетом наличия прямой взаимосвязи с формой хронического тонзиллита. Поэтому оценка уровня нетоза может быть предложена в качестве перспективного лабораторного критерия тяжести состояния пациента, прогнозирования течения заболевания и эффективности проводимого лечения.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пальчун В. Т., Крюков А. И., Гуров А. В., Ермолаев А. Г. Небные миндалины: физиология и патология. *Вестник оториноларингологии*. 2019;84(6):11–16. <https://doi.org/10.17116/otorino20198406111>
2. Блоцкий А. А., Антипенко В. В. Роль тонзилэктомии у больных с декомпенсированной формой хронического тонзиллита и сопряженными с ним заболеваниями. *Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae*. 2020;26(2):58–68. <https://doi.org/10.33848/fofiorl23103825-2020-26-2-58-68>
3. Павлова Г. В., Мартюшева В. И. Вторичная профилактика обострений хронического тонзиллита бактериофагальными средствами. *Вестник оториноларингологии*. 2019;84(2):46–49. <https://doi.org/10.17116/otorino20198402146>. EDN RZNQMC
4. Бондарева Г. П., Антонова Н. А., Чумакова П. Л. Иммуноморфологические особенности хронического тонзиллита. *Вестник оториноларингологии*. 2013;78(3):12–16.
5. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y. et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303:1532–1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
6. Magán-Fernández A., Rasheed Al-Bakri S. M., O'Valle F., Benavides-Reyes C., Abadía-Molina F., Mesa F. Neutrophil Extracellular Traps in Periodontitis. *Cells*. 2020 Jun 19;9(6):1494. <https://doi.org/10.3390/cells9061494>. PMID: 32575367; PMCID: PMC7349145
7. Wang W., Peng W., Ning X. Increased levels of neutrophil extracellular trap remnants in the serum of patients with rheumatoid arthritis. *Int. J. Rheum. Dis*. 2018;21:415–421. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13226>
8. Mulay S. R., Anders H.-J. Neutrophils and Neutrophil Extracellular Traps Regulate Immune Responses in Health and Disease. *Cells*. 2020;9:2130.
9. Кассина Д. В., Василенко И. А., Гурьев А. С., Волков А. Ю., Метелин В. Б. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: значение для диагностики и прогноза COVID-19. *Альманах клинической медицины*. 2020;48:43–50. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2020-48-029>
10. Gupta S., Kaplan M. J. The role of neutrophils and NETosis in autoimmune and renal diseases. *Nat. Rev. Nephrol*. 2016;12:402–413. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.71>
11. Пальчун В. Т., Гуров А. В., Гусева О. А. Патогенетические особенности формирования хронической тонзиллярной патологии. *Вестник оториноларингологии*. 2018;83(2):30–33. <https://doi.org/10.17116/otorino201883230-33>
12. Пальчун В. Т., Крюков А. И., Гуров А. В., Дубовая Т. К., Ермолаев А. Г. Морфофункциональное состояние небных миндалин при различных формах хронического тонзиллита. *Медицинский совет*. 2020;(16):150–159. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-16-150-159>
13. Салтанова Ж. Е. Хронический тонзиллит и его бактериальные возбудители. *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. 2013;2:206–212.
14. Тимурзиева А. Б., Кукушкин В. И., Артемьев Д. Н. и др. Использование раман-флюоресцентной спектроскопии в диагностике воспалительных изменений в глотке при хроническом тонзиллите. *Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae*. 2018;24(3):32–41.

15. Karthikeyan G., Guilherme L. Acute rheumatic fever. *Lancet*. 2018 Jul 14;392(10142):161-174. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30999-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30999-1). Epub 2018 Jun 29. Erratum in: *Lancet*. 2018 Sep 8;392(10150):820. PMID: 30025809.
16. Савлевич Е. Л., Козлов В. С., Анготеова И. Б. Современные представления о роли небных миндалин в системе иммунитета и анализ применения иммуномодулирующих препаратов при хроническом тонзиллите. *Российская оториноларингология*. 2018;6:48–55. <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2018-6-48-55>
17. Песчаный В. Г. Клинико-иммунологическая оценка эффективности фотодинамической терапии у детей с хроническим тонзиллитом в различных условиях. *Национальное здоровье*. 2016;3-4:48–58.
18. IgA potentiates NETosis in response to viral infection, Hannah D. Stacey, Diana Golubeva, Alyssa Posca, Jann C. Ang, Kyle E. Novakowski, Muhammad Atif Zahoor, Charu Kaushic, Ewa Cairns, Dawn M. E. Bowdish, Caitlin E. Mullarkey, Matthew S. Miller, *Proceedings of the National Academy of Sciences* Jul 021, 118 (27) e2101497118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2101497118>

REFERENCES

1. Palchun V. T., Kryukov A. I., Gurov A. V., Ermolaev A. G. Palatine tonsils: physiology and pathology. *Bulletin of otorhinolaryngology*. 2019;84(6):11-16. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/otorino20198406111>
2. Blotsky A. A., Antipenko V. V. The role of tonsillectomy in patients with decompensated chronic tonsillitis and associated diseases. *Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae*. 2020; 26(2):58-68. <https://doi.org/10.33848/foliorl23103825-2020-26-2-58-68> (In Russ.)
3. Pavlova G. V., Martysheva V. I. Secondary prevention of exacerbations of chronic tonsillitis by bacteriophage agents. *Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2019;84(2):46-49. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/otorino20198402146>. EDN RZNQMC.
4. Bondareva G. P., Antonova N. A., Chumakova P. L. Immunomorphological features of chronic tonsillitis. *Bulletin of otorhinolaryngology*. 2013;78(3):12-16. (In Russ.)
5. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y. et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria, *Science*. 2004;303,1532-1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
6. Magán-Fernández A., Rasheed Al-Bakri S. M., O'Valle F., Benavides-Reyes C., Abadía-Molina F., Mesa F. Neutrophil Extracellular Traps in Periodontitis. *Cells*. 2020 Jun 19;9(6):1494. <https://doi.org/10.3390/cells9061494>. PMID: 32575367; PMCID: PMC7349145.
7. Wang W., Peng W., Ning X. Increased levels of neutrophil extracellular trap remnants in the serum of patients with rheumatoid arthritis. *Int. J. Rheum. Dis*. 2018;21:415-421. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13226>.
8. Mulay S. R., Anders H.-J. Neutrophils and Neutrophil Extracellular Traps Regulate Immune Responses in Health and Disease. *Cells*. 2020;9:2130.
9. Kassina D. V., Vasilenko I. A., Guryev A. S., Volkov A. Yu., Metelin V. B. Neutrophil extracellular traps: implications for the diagnosis and prognosis of COVID-19. *Almanac of Clinical Medicine*. 2020;48:43-50. (In Russ.) <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2020-48-029>
10. Gupta S., and Kaplan M. J. The role of neutrophils and NETosis in autoimmune and renal diseases. *Nat. Rev. Nephrol*. 2016;12:402-413. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.71>
11. Palchun V. T., Gurov A. V., Guseva O. A. Pathogenetic features of the formation of chronic tonsillar pathology. *Bulletin of otorhinolaryngology*. 2018;83(2):30-33. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/otorino201883230-33>
12. Palchun V. T., Kryukov A. I., Gurov A. V., Dubovaya T. K., Ermolaev A. G. Morphofunctional state of the palatine tonsils in various forms of chronic tonsillitis. *Medical advice*. 2020;(16):150-159. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-16-150-159>
13. Saltanova Zh. E. Chronic tonsillitis and its bacterial pathogens. *Kremlin medicine. Clinical Bulletin*. 2013;2:206-212. (In Russ.)
14. Timurzieva A. B., Kukushkin V. I., Artem'ev D. N. et al. The use of Raman fluorescence spectroscopy in the diagnosis of inflammatory changes in the pharynx in chronic tonsillitis. *Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae*. 2018;24(3):32-41. (In Russ.)
15. Karthikeyan G., Guilherme L. Acute rheumatic fever. *Lancet*. 2018 Jul 14;392(10142):161-174. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30999-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30999-1). Epub 2018 Jun 29. Erratum in: *Lancet*. 2018 Sep 8;392(10150):820. PMID: 30025809.
16. Savlevich E. L., Kozlov V. S., Angoteova I. B. The present-day views of the role of palatine tonsils in the immune system and analysis of application of immunotropic drugs in chronic tonsillitis. *Rossiiskaya otorinolaringologiya*. 2018;6:48–55. (In Russ.) <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2018-6-48-55>
17. Sandy V. G. Clinical and immunological evaluation of the effectiveness of photodynamic therapy in children with chronic tonsillitis in various conditions. *National health*. 2016;3-4:48-58 (In Russ.)
18. IgA potentiates NETosis in response to viral infection, Hannah D. Stacey, Diana Golubeva, Alyssa Posca, Jann C. Ang, Kyle E. Novakowski, Muhammad Atif Zahoor, Charu Kaushic, Ewa Cairns, Dawn M. E. Bowdish, Caitlin E. Mullarkey, Matthew S. Miller, *Proceedings of the National Academy of Sciences* Jul 021, 118 (27) e2101497118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2101497118>

Информация об авторах

✉ **Курбанова Алина Юрьевна** – аспирант кафедры оториноларингологии, Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М. Ф. Владимирского (129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2); врач-оториноларинголог, Клиника доктора Загера (ООО Мегаинфо) (115280, Россия, Москва, 1-й Кожуховский проезд, д. 1/7); e-mail: aukurbanova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1016-2268>

Егоров Виктор Иванович – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ, главный научный сотрудник, заведующий отделением оториноларингологии, Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М. Ф. Владимирского (129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2); e-mail: evi.lor-78@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8825-5096>, SPIN-код: 5827-5767, ID Scopus 57198083826

Василенко Ирина Анатольевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией биомедицинских методов исследований, Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М. Ф. Владимирского (129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2); профессор кафедры Неорганической и аналитической химии, Российский государственный университет имени А. Н. Косыгина (117997, Россия, Москва, Садовническая ул., д. 33, стр. 1); e-mail: vasilenko.ia0604@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6374-9786>, SPIN-код: 6611-9990, AuthorID: 23702

Кассина Дарья Валерьевна – научный сотрудник лаборатории биомедицинских методов исследований, Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М. Ф. Владимирского (129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2); e-mail: vertebra1496@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6759-9121>, SPIN-код: 9361-0980, AuthorID: 998492

Information about authors

✉ **Alina Yu. Kurbanova** – Postgraduate Student of the Department of Otorhinolaryngology, Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI) (61/2, str. Shchepkina, Moscow, Russia, 129110); otorhinolaryngologist, Clinic of Dr. Zager (LLC Megainfo) (1/7, 1st Kozhukhovskiy proezd, Moscow, Russia, 115280); e-mail: aukurbanova@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1016-2268>

Viktor I. Egorov – MD, Honored Doctor of the Russian Federation, Chief Researcher, Head of the Department of Otorhinolaryngology, Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI) (61/2, str. Shchepkina, Moscow, Russia, 129110); e-mail: evi.lor-78@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8825-5096>, SPIN: 5827-5767, Scopus ID 57198083826

Irina A. Vasilenko – MD, Professor, Head of the Laboratory of Biomedical Research Methods, Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI) (61/2, str. Shchepkina, Moscow, Russia, 129110); Professor of the Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Kosygin Russian State University (1/33, str. Sadovnicheskaya, Moscow, Russia, 117997); e-mail: vasilenko.ia0604@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6374-9786>, SPIN-код: 6611-9990, AuthorID: 23702

Dar'ya V. Kassina – Researcher, Laboratory of Biomedical Research Methods, Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI) (61/2, str. Shchepkina, Moscow, Russia, 129110); e-mail: vertebra1496@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6759-9121>, SPIN code: 9361-0980, AuthorID: 998492

Статья поступила 10.05.2023

Принята в печать 05.07.2023