

<https://doi.org/10.5281/zenodo.8395593>

УДК 616.21; 616-002.2

НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЛОВУШКИ (NETS) КАК КРИТЕРИЙ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ТОНЗИЛЛИТА

А.Ю. Курбанова,

аспирант отделения оториноларингологии,

В.И. Егоров,

проф., д.м.н., зав.каф. оториноларингологии

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского

И.А. Василенко,

научный консультант, зав. лабораторией биомедицинских методов

исследований,

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского,

ФГБОУ ВО РГУ им. А.Н. Косыгина

Аннотация: В статье оцениваются диагностические возможности определения уровня NETs в эффективности лечения хронического тонзиллита. Проведено сравнительное исследование нейтрофилов и нетоз-трансформированных лейкоцитов у 120 пациента с диагнозом хронический тонзиллит. %NETs определяли в мазках крови по типу «монослой» и мазках с поверхности лакун небных миндалин, которые затем окрашивали по Романовскому-Гимзе. Микроскопию мазков проводили с помощью автоматизированной системы МЕКОС-Ц2. Сравнительный анализ количества выявленных NETs группах показал, что у пациентов с хроническим тонзиллитом %NETs в 2 раза выше, чем у здоровых доноров. Оценка %NETs после проведенного лечения продемонстрировала, что в третьей группе было снижение этого показателя в крови на 40,5%, а в мазках с поверхности лакун небных миндалин на 33,3%. Таким образом, комбинирование промывания лакун НМ и местных процедур НО-терапии является наиболее эффективным способом воздействия на тканевой очаг воспаления.

Ключевые слова: хронический тонзиллит, небные миндалины, НЕТОз; нейтрофильные внеклеточные ловушки

NEUTROPHILIC EXTRACELLULAR TRAPS (NETs) AS A CRITERION FOR ASSESSING THE EFFECTIVENESS OF THERAPY IN CHRONIC TONSILLITIS

A.Yu. Kurbanova,

Postgraduate student of the Department of Otorhinolaryngology

V.I. Egorov,

Professor, MD, Head of the Department of Otorhinolaryngology,

GBUZ MO MONIKI named after M.F. Vladimirsky

I.A. Vasilenko,

scientific consultant, head laboratory of biomedical research methods,

GBUZ MO MONIKI named after M.F. Vladimirsky,

FGBOU VO RGU named after A.N. Kosygin

Annotation: The article evaluates the diagnostic possibilities of determining the level of NETs in the effectiveness of the treatment of chronic tonsillitis. A comparative study of neutrophils and netosis-transformed leukocytes was carried out in 120 patients diagnosed with chronic tonsillitis. %NETs were determined in blood smears of the "monolayer" type and smears from the surface of the palatine tonsil lacunae, which were then stained according to Romanovsky-Giemsa. Smear microscopy was performed using the MEKOS-C2 automated system. A comparative analysis of the number of identified NETs in groups showed that in patients with chronic tonsillitis, %NETs are 2 times higher than in healthy donors. Assessment of %NETs after the treatment showed that in the third group there was a decrease in this indicator in the blood by 40.5%, and in smears from the surface of the lacunae of the palatine tonsils by 33.3%. Thus, the combination of NM lacunae lavage and local NO-therapy procedures is the most effective way to influence the tissue focus of inflammation.

Keywords: chronic tonsillitis, palatine tonsils, NETosis, neutrophilic extracellular traps

Хронический тонзиллит (ХТ) является актуальной проблемой, ведь доля обращений взрослого населения с этим диагнозом в практике

врача-оториноларинголога составляет от 4 - 35%. Это заболевание затрагивает в основном лиц молодого возраста, способно вызывать развитие тяжелых и инвалидизирующих осложнений [1].

НМ являются уникальным органом иммунной системы, продуцирующим большое количество биологически активных веществ, участвующих во всех этапах иммунного ответа против разнообразных патогенов [2, 3], что вынуждает бороться за их сохранение, выводя на первый план терапевтические методы лечения ХТ. Не до конца определено участие факторов неспецифической резистентности в развитии заболевания и возможность использования факторов неспецифического иммунитета в качестве критериев эффективности лечения. Не так давно был обнаружен новый тип поведения фагоцитарных клеток человека и животных: этотическая трансформация фагоцитов, вследствие которой трансформируется, расплетается собственное ядро до длинных нитей ДНК, образуя внеклеточную ДНК-ловушку с иммобилизованными антимикробными молекулами [4-8]. Однако истинное значение этого иммунного механизма и его роль в патогенезе ХТ остается не изученной.

Цель настоящего исследования – оценить эффективность различных вариантов лечения ХТ с использованием в качестве критерия уровня нейтрофильных внеклеточных ловушек (%НВЛ).

Обследован 120 человек (99 женщин и 21 мужчина) в возрасте от 18 лет до 65 лет (медиана $36 \pm 10,55$ лет), обратившихся за специализированной амбулаторной помощью в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского и Клинику Доктора Загера (ООО «МЕГАИНФО»). Все пациенты рандомно (методом конвертов) были разделены на 3 группы. Во всех трех группах было проведено 10 лечебных процедур через день. В 1-й группе проводилась санация НМ раствором NaCl 0.9% 40 мл, используя аппарат «Тонзиллор-ММ», и ручное промывание НМ раствором NaCl 0.9% 40 мл по методу Н.В. Белоголового с дальнейшим введением раствора хлорофиллипта 1,0 мл в лакуны.

Во 2й группе промывание лакун НМ проводилась аналогичным образом, затем назначали лазерную терапию, после чего вводился раствор хлорофиллипта 1,0 мл в лакуны НМ. В комплексном лечении пациентов 3й группы лазерная терапия была заменена на воздействие

экзогенного оксида азота интралакунарно при помощи аппарата «Плазон» по 30 сек на небную миндалину.

Оценку уровня %НВЛ проводили до и через 1 месяц после лечения в мазках цельной крови по типу «монослой», подсчитывая нативные и трансформированные нейтрофилы, и в мазках с поверхности лакун НМ, оценивая содержание клеточных структур и продуктов нетоза. Уровень НВЛ (%НВЛ) в мазке, отражающий долю нетотически трансформированных нейтрофилов, циркулирующих в периферической крови, рассчитывали по формуле

$$\%НВЛ = N_{НВЛ} / (N_{НАТ} + N_{НВЛ}),$$

где $N_{НВЛ}$ – количество нейтрофильных внеклеточных ловушек;

$N_{НАТ}$ – количество нативных нейтрофилов.

На первом этапе мы провели оценку уровней НВЛ в мазках цельной крови и ПН в мазках с поверхности лакун НМ как критерия неспецифической иммунореактивности

Проведенное исследование показало, что НВЛ четко представлены в мазках цельной крови и мазках с поверхности лакун НМ (рис. 1). Они являют собой элементы, которые больше исходных клеток в 10-15 раз.



Рисунок 1 - 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 x500

Мы установили, что среднее значение уровня НВЛ в мазках цельной крови здоровых доноров составил $5,71 \pm 2,53\%$, тогда как у

пациентов с ХТ %НВЛ был практически в 2,5 раза выше и составил $12,71 \pm 6,94\%$ ($p < 0,05$).

В первой группе уровень НВЛ до лечения у пациентов составлял $12,95 \pm 2,32\%$. Через 1 месяц результат продемонстрировал снижение показателя на 24% и достиг уровня $9,85 \pm 1,29\%$. Уровень НВЛ в периферической крови до лечения у пациентов во второй группе составлял $13,25 \pm 6,58\%$, что было существенно выше нормы. Спустя месяц после терапии, уровень НВЛ в крови снизился на 27% и достиг $9,65 \pm 1,47\%$. Уровень НВЛ в периферической крови до лечения у пациентов в третьей группе составлял $13,20 \pm 2,84\%$. Через месяц после проведенной курсовой терапии, уровень НВЛ снизился на 40,5% и практически достиг нормы, продемонстрировав показатель - $7,85 \pm 2,02\%$.

У здоровых добровольцев оценка активности нетоза в мазках с поверхности лакун НМ демонстрирует отсутствие продуктов нетоза (ПН) в 64% случаев, а в 27% был обнаружен низкий уровень ПН. У пациентов с ХТ повышенные значения ПН определялись 55%: в 34% случаев зарегистрирована средний уровень, в 21% - высокий уровень. У пациентов 1-й группы уровень продуктов нетоза на среднем и высоком уровнях снизился на 10 %, во 2-й группе снизился на 19 %, а в 3-й группе снизился на 33,3%.

Полученные результаты позволяют предположить, что %НВЛ объективно отражает изменения неспецифической иммунореактивности пациентов с ХТ, позволяет оценить состояние небных миндалин и эффективность проводимой терапии. Результаты исследования свидетельствуют, что комбинирование промывания лакун НМ и местных процедур НО-терапии является наиболее эффективным способом воздействия на тканевой очаг воспаления.

Список литературы

- [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 с. <https://doi.org/10.17116/otorino20198406111>.
- [2] Mustafa Z, Ghaffari M. Diagnostic Methods, Clinical Guidelines, and Antibiotic Treatment for Group A Streptococcal Pharyngitis: A Narrative

Review. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020 Oct 15;10:563627. doi: 10.3389/fcimb.2020.563627. PMID: 33178623; PMCID: PMC7593338.

[3] Савлевич Е.Л., Козлов В.С., Анготоева И.Б.. Современные представления о роли небных миндалин в системе иммунитета и анализ применения иммуномодулирующих препаратов при хроническом тонзиллите. *Российская оториноларингология.* 2018; 6(97):48-55 (In Russian). <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2018-6-48-55>.

[4] Skendros P, Mitroulis I, Ritis K. Autophagy in Neutrophils: From Granulopoiesis to Neutrophil Extracellular Traps. *Front Cell Dev Biol.* 2018; 6:109. doi: 10.3389/fcell.2018.00109.

[5] Yousefi S., Simon D., Stojkov D., Karsonova A., Karaulov A., Simon H.U. In vivo evidence for extracellular DNA trap formation, *Cell Death Dis.* 2020; 11: 300. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2497-x>.

[6] 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; DOI: 10.1073/pnas.2101497118

[7] Anna Henningham, Simon Döhrmann, Victor Nizet, Jason N. Cole, Mechanisms of group A Streptococcus resistance to reactive oxygen species, *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 39, Issue 4, July 2015. 488-508 p. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuu009>

[8] Воробьева Н.В., Черняк Б.В. НЕТоз: молекулярные механизмы, роль в физиологии и патологии. *Биохимия Москва* 85, 1178–1190 (2020). <https://doi.org/10.1134/S0006297920100065>.

Bibliography (Transliterated)

[1] Palchun V.T., Kryukov A.I., Gurov A.V., Ermolaev A.G. Palatine tonsils: physiology and pathology. *Bulletin of otorhinolaryngology.* – 2019. No. 84(6). 11-16 p. <https://doi.org/10.17116/otorino20198406111>.

[2] Mustafa Z, Ghaffari M. Diagnostic Methods, Clinical Guidelines, and Antibiotic Treatment for Group A Streptococcal Pharyngitis: A Narrative Review. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020 Oct 15;10:563627. doi: 10.3389/fcimb.2020.563627. PMID: 33178623; PMCID: PMC7593338.

[3] Savlevich E.L., Kozlov V.S., Angotoeva I.B. Modern ideas about the role of palatine tonsils in the immune system and analysis of the use of immunotropic drugs in chronic tonsillitis. Russian otorhinolaryngology. 2018; 6(97):48-55 (In Russian). <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2018-6-48-55>.

[4] Skendros P, Mitroulis I, Ritis K. Autophagy in Neutrophils: From Granulopoiesis to Neutrophil Extracellular Traps. Front Cell Dev Biol. 2018; 6:109. doi: 10.3389/fcell.2018.00109.

[5] Yousefi S., Simon D., Stojkov D., Karsonova A., Karaulov A., Simon H.U. In vivo evidence for extracellular DNA trap formation, Cell Death Dis. 2020; 11:300. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2497-x>.

[6] 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; DOI: 10.1073/pnas.2101497118

[7] Anna Henningham, Simon Döhrmann, Victor Nizet, Jason N. Cole, Mechanisms of group A Streptococcus resistance to reactive oxygen species, FEMS Microbiology Reviews, Volume 39, Issue 4, July 2015. 488-508 p. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuu009>

[8] Vorob'eva N.V., Chernyak B.V. NETosis: molecular mechanisms, role in physiology and pathology. Biochemistry Moscow 85, 1178–1190 (2020). <https://doi.org/10.1134/S0006297920100065>.

© А.Ю. Курбанова, В.И. Егоров, И.А. Василенко, 2023

Поступила в редакцию 04.08.2023

Принята к публикации 31.08.2023

Для цитирования:

Курбанова А.Ю., Егоров В.И., Василенко И.А. Нейтрофильные внеклеточные ловушки (nets) как критерий оценки эффективности терапии хронического тонзиллита // Инновационные научные исследования. 2023. № 8-1(31). С. 27-33. URL: <https://ip-journal.ru/>