

# ASSESSMENT OF APOPTOSIS IN CHRONIC TONSILLITIS: THE ROLE OF CELL DEATH IN THE PATHOGENESIS OF THE DISEASE AND ITS INTERRELATION WITH THE IMMUNE RESPONSE

Lutfullaev G.U., Kobilova Sh.Sh., Madaminova N.E., Karimova Z.Kh., Mirzaev E.M., Mardonov H.Kh.

**Abstract.** Chronic tonsillitis is a persistent inflammation of the tonsil tissue that occurs due to recurrent acute or subclinical infections. Recurrent and chronic inflammation of the palatine tonsils sometimes leads to hypertrophy. Apoptosis provides an important balance between lymphocytes in the lymphoid tissue of the tonsils. The aim of this study is to study apoptosis in tonsil diseases.

**Key words:** chronic tonsillitis, apoptosis, tonsils, tonsil hypertrophy.

## ОЦЕНКА АПОПТОЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТОНЗИЛЛИТЕ: РОЛЬ КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ И ЕГО ВЗАИМОСВЯЗЬ С ИММУННЫМ ОТВЕТОМ

Лутфуллаев Г.У., Кобилова Ш.Ш., Мадаминова Н.Э., Каримова З.Х., Мирзаев Э.М., Мардонов Х. Х.

**Аннотация.** Хронический тонзиллит — это стойкое воспаление ткани миндалин, которое возникает из-за рецидивирующих острых или субклинических инфекций. Рецидивирующее и хроническое воспаление небных миндалин иногда приводит к гипертрофии. Апоптоз обеспечивает важный баланс между лимфоцитами в лимфоидной ткани миндалин. Целью данного исследования является изучение апоптоза при заболеваниях миндалин.

**Ключевые слова:** хронический тонзиллит, апоптоз, миндалины, гипертрофия миндалин.

### Введение.

Иммунологические реакции в миндалинах могут привести к гипертрофии и хронической инфекции. Хронический тонзиллит — это стойкое воспаление, возникающее вследствие рецидивирующего острого тонзиллита или субклинических инфекций. Хронический тонзиллит — это клинический диагноз, основанный на истории тонзиллита и боли в горле, возникающих 3–4 раза в год, которые не поддаются эффективному антибактериальному лечению [1]. Гипертрофия миндалин развивается в результате гиперплазии паренхимы или фибриноидной дегенерации, что приводит к обструкции крипт. Однако хроническая инфекция также может привести к атрофии.

Этиология гипертрофии лимфоидной ткани миндалин точно не установлена, однако диета, генетика и гуморальные изменения могут играть роль [2]. Кроме того, причины гипертрофии миндалин и влияние рецидивирующего тонзиллита на состав иммунных клеток до сих пор не полностью ясны [3].

Апоптоз — это морфологическое инволюционное изменение, вызванное программой клеточной гибели, ассоциированное с запрограммированной клеточной смертью. Апоптоз, индуцированный антигеном *Fas* и гибель иммунных клеток в лимфоидных тканях, происходит через апоптотические механизмы. Количество апоптотических клеток в миндалинах выше у взрослых, чем у детей. Апоптоз может быть связан с морфологическими и иммунологическими инволюциями миндалин [4]. Генеральный центр лимфоидных тканей играет важную роль как в клеточной пролиферации, так и в клеточной гибели. Апоптоз — это результат запрограммированной, а не патологической клеточной смерти, и он играет важную роль в поддержании иммунитета и развитии жизни [5]. Апоптоз встречается редко в незрелых типах генеральных центров, но в избыточном количестве — в зрелых типах. Апоптоз выполняет важную функцию в генеральном центре миндалин [6]. Количество лимфоцитов в миндалинах и их роль в иммунном ответе зависит от их пролиферации и миграции. Апоптоз обеспечивает баланс среди лимфоцитов. Таким образом, стимулированные аутоагрессивные Т-лимфоциты с низкой специфичностью удаляются из организма [7,8]. Апоптоз играет роль в продолжении иммунного ответа, обеспечивая гомеостаз лимфоцитов в нормальной тканевой структуре миндалин, а также в патологических состояниях, таких как гипертрофия и хроническая инфекция. Апоптоз регулирует баланс митоза, чтобы защитить ремоделирование ткани и клеточный гомеостаз в процессе развития. Поэтому он играет важную роль в контроле тканевой гиперплазии, уравнивая количество лимфоцитов [7]. Необходимо поддержание баланса между апоптозом и пролиферацией в нормальной лимфоидной ткани для поддержания постоянного общего числа лимфоцитов [9]. Апоптоз регулирует продолжительность жизни воспалительных клеток. Следовательно, увеличение или уменьшение апоптоза определяет ход воспалительного процесса. Снижение апоптоза приводит к хроническому воспалению и увеличению тяжести заболевания. Кучера и соавт. [10] показали, что пролиферация и клеточная гибель в основном затрагивали В-клетки при хроническом воспалении. Апоптоз в иммунной системе и в лимфоцитах был широко изучен; однако в литературе есть только одно исследование, посвященное апоптозу при заболеваниях миндалин [7].

### **Материалы и методы**

В данном исследовании приняли участие 45 пациента с клиническим диагнозом хронического тонзиллита и гипертрофии миндалин. Их возраст варьировал от 2 до 16 лет, средний возраст составил 6 лет. 25 пациента были мужчинами, 20 — женщинами. Пациенты с системными заболеваниями и другими отоларингологическими проблемами в исследование не включались. Размер миндалин определялся по системе стадирования Фридмана, как стадия 1, 2, 3 и 4 [11]. Тонзиллэктомия проводилась под общим наркозом с использованием метода диссекции. Пациенты с симптомами и/или признаками рецидивирующего острого тонзиллита, рецидивирующей боли в горле, неприятного запаха изо рта и размером миндалин 1 и 2 стадии были отнесены к группе хронического тонзиллита ( $n = 22$ ). Пациенты с симптомами и/или признаками храпа, дыхания с открытым ртом, в дополнение к вышеуказанным симптомам и/или признакам, и

размером миндалин 3 и 4 стадии были отнесены к группе гипертрофии миндалин ( $n = 21$ ). Ткани миндалин были отправлены в формалиновый раствор в отделение гистологии и эмбриологии для исследования апоптоза. Апоптоз был оценен в различных компонентах ткани миндалин.

Все пациенты были оперированы амбулаторно. Послеоперационных осложнений не было. Пробирки с тканями в 10% растворе формалина были обработаны сериями различных концентраций этанола и ксилола. Затем они были переведены в парафин, и были подготовлены парафиновые блоки. Срезы толщиной 4–5 мм были получены. Апоптоз определяли методом «TdT-dUTP nick-end-labeling» (TUNEL) с использованием набора Apop-Tag1 Plus Peroxidase Kit (In Situ Apoptosis Detection Kit, Chemicon (Millipore), Биллерика, Массачусетс, США), согласно инструкции по применению.

Апоптоз оценивался в наиболее интенсивно окрашенных участках с использованием световой микроскопии при увеличении  $\times 400$  (Leica DMR, Вецлар, Германия). Апоптотические клетки подсчитывались согласно критериям Керра 1972 года [12]: коричневая окраска, морфологическое конденсирование и фрагментация ядра, овальной или круглой формы с узким до плотного цитоплазматического ободка. Три различных области в каждом микроотделе были оценены для каждого образца, и вычислялось их среднее значение.

### Результаты

Среднее количество апоптотических клеток в разных стадиях миндалин показано в таблице 1. Различия не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ). Стадии 1 и 2 были объединены в группу хронического тонзиллита, а стадии 3 и 4 — в группу гипертрофии миндалин. Количество апоптотических клеток в этих группах показано в таблице 2. Различия не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ).

Возраст шести лет был использован в качестве порогового для сравнения апоптоза в ткани миндалин. Сравнение апоптоза в ткани миндалин между группами хронического тонзиллита и гипертрофии миндалин у пациентов до и после 6 лет. Различия не были статистически значимыми для пациентов до 6 лет, однако для пациентов старше 6 лет различия были статистически значимыми.

**Таблица 1**

**Сравнение количества апоптотических клеток в зависимости от стадий миндалин (анализ дисперсии Краскала-Уоллиса).**

СТАДИЯ	СРЕДНЕЕ КОЛИЧЕСТВО АПОПТОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК	W	СТАНДАРТНОЕ ОТКЛОНЕНИЕ (SD)	СТАТИСТИКА
СТАДИЯ 1 (N = 6)	9,5	$\chi^2 = 3,96$	5,54	$p = 0,266$
СТАДИЯ 2 (N = 16)	12,88		7,29	
СТАДИЯ 3 (N = 13)	13,31		5,69	
СТАДИЯ 4 (N = 8)	12		2,14	

SD: Стандартное отклонение.

**Таблица 2**

**Сравнение количества апоптотических клеток в группах хронического тонзиллита и гипертрофии миндалин (тест Манна–Уитни U).**

ГРУППЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	СРЕДНЕЕ КОЛИЧЕСТВО АПОПТОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК	W	СТАНДАРТНОЕ ОТКЛОНЕНИЕ (SD)	СТАТИСТИКА А
ХРОНИЧЕСКИЙ ТОНЗИЛЛИТ (N = 22)	11,95	Z = 1,35	6,90	p = 0,175
ГИПЕРТРОФИЯ МИНДАЛИН (N = 21)	12,81	5	4,63	

SD: Стандартное отклонение.

### Заключения

Апоптоз играет роль в балансировании пролиферации лимфоцитов в ткани миндалин. Для обеспечения лимфоидного гомеостаза клеточная смерть (апоптоз) должна увеличиваться при гипертрофии миндалин, где происходит пролиферация клеток. Апоптоз, по всей видимости, играет важную роль при гипертрофии или атрофии миндалин, поскольку гипертрофия миндалин развивается вторично вследствие лимфоидной гиперплазии. Связь между апоптозом и гипертрофией миндалин, кажется, зависит от возраста.

### Список Литературы

1. Усовершенствование лечения больных с юношеской ангиофибромой носоглотки Г Лутфуллаев, Ш Кобилова, Ф Хамраев, Ф Асророва - *Стоматология*, 2015
2. Clinical and Morphological Characteristics of Benefits of the Nose and Paranasal Sinuses G Lutfullaev, N Safarova, U Nematov, S Kobilova... - *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 2021
3. Exudative Otitis Media-Early Symptom of Junior Nasopharyngeal Angiofibroma G Lutfullaev, U Lutfullaev, S Kobilova, N Safarova... - *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 2021
4. Lutfullaev, G. U., & Safarova, N. I. (2023). Plant Immunomodulators in the Treatment of Diseases of the Upper Respiratory Tract. *INTERNATIONAL JOURNAL OF HEALTH SYSTEMS AND MEDICAL SCIENCES*, 2(1), 128-132.
5. Lutfullaev, G. U., Fayzullaev, A. I., & Sh, K. S. (2023). Clinic and Diagnosis of Benign Tumors of the Laryngopharynx. *INTERNATIONAL JOURNAL OF HEALTH SYSTEMS AND MEDICAL SCIENCES*, 2(1), 115-118.
6. Лутфуллаев Г. У. Клиника, диагностика и современные методы лечения доброкачественных опухолей полости носа и придаточных пазух. Дис. к-та мед.наук. Ташкент, 2004 С. 65-85.
7. 5. Лутфуллаев У.Л., Сафарова Н.И., Ким Н.А., Мухтарова Д.А. // Микрофлора гайморитов у больных с доброкачественными новообразованиями полости носа и гайморовой пазухи *Stomatologia*. Ташкент, 2015. № 3-4. С. 128-130.
8. 6. Сафарова Н.И. Диагностика и лечение синуситов при доброкачественных новообразованиях носа и околоносовых пазух. Дис. к-та мед.наук. Ташкент, 2011 С. 3-7.



9. Lutfullaev, G. U. (2023). Characteristics of Auditory Dysfunction in Patients with Benign Neoplasms in Ent Practice. INTERNATIONAL JOURNAL OF HEALTH SYSTEMS AND MEDICAL SCIENCES, 2(6), 132-135.