

## ARTICOL DE CERCETARE

## Impactul imunogenetic asupra evoluției și tacticii de tratament la pacienții cu amigdalită cronică decompensată asociată sindromului articular: studiu prospectiv, pe serie de cazuri

Cezara Andronachi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Catedra de otorinolaringologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

### Autor corespondent:

Cezara Andronachi, doctorand

Catedra de otorinolaringologie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: cezglav@gmail.com

## RESEARCH ARTICLE

## Immunogenetics impact on the evolution and treatment strategy in patients with decompensated chronic tonsillitis associated with articular syndrome: a prospective, case-series study

Cezara Andronachi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Chair of otorhinolaryngology, Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

### Corresponding author:

Cezara Andronachi, PhD fellow

Chair of otorhinolaryngology

Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: cezglav@gmail.com

### Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Studierea nivelului de corelare între dereglările imunologice locale și procesele imune sistemice este importantă din motivul că se completează viziunea patogeniei amigdalitei cronice asociate cu sindromul articular de origine streptococică și se dă un impuls nou tratamentului patogenetic și formării unui prognostic just.

### Ipoteza de cercetare

Valorificarea indicațiilor tratamentului conservativ și chirurgical în baza statutului clinico-paraclinic și imunogenetic (antigenii leucocitari de histocompatibilitate clasa IA, IB) la pacienții cu amigdalită cronică și sindrom articular.

### Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Au fost identificate frecvențele alelelor HLA-A și HLA-B pentru pacienții tratați conservativ vs. tratați medicamentos. Diferențe statistice semnificative au fost constatate doar pentru HLA-B31 și HLA-B45, care au predominat în grupul tratat conservativ.

### What is not known yet, about the topic

Studying the level of correlation between local immunological disorders and systemic immune processes is important, because the results complement the pathogenesis vision of chronic tonsillitis, associated with the articular syndrome of streptococcal origin, and give new impulse to the pathogenic treatment and formation of a fair prognosis.

### Research hypothesis

Highlighting of conservative and surgical treatment indications based on the clinical-laboratory and immunogenetic status (antigens HLA class IA, IB) in patients with chronic tonsillitis and articular syndrome.

### Article's added novelty on this scientific topic

There have been identified frequencies of HLA-A and HLA-B alleles in patients treated conservatively vs. those treated medically. Statistically significant differences were found for the HLA-B31 and HLA-B45 only, which predominated in the group treated conservatively.

### Rezumat

**Introducere.** Eficiența redusă a măsurilor de tratament a amigdalitei cronice este condiționată, într-o anumită măsură, de subaprecierea influenței imunogenetice asupra aspectului etiopatogenic. În ultimele decenii, au fost obținute rezultate evidente în studierea corelației dintre amigdalita cronică și antigenii leucocitari de histocompatibilitate.

### Abstract

**Introduction.** The low efficiency of chronic tonsillitis (CT) treatment measures is, to some extent, condition to the underestimation of the immunogenetics impact of the etiopathogenic aspect. In recent decades there were obtained obvious results in studying the correlation between CT and histocompatibility leukocyte antigens (HLA).

**Material și metode.** Studiu prospectiv consecutiv, pe serie de cazuri, ce a inclus 101 de pacienți adulți, în vârstă de 18-50 de ani, cu diagnosticul de amigdalită cronică decompensată; 50 de pacienți au beneficiat de tratament conservativ, iar 51 de pacienți au fost tratați chirurgical. Examinare clinică și paraclinică, specifică domeniului ORL; identificarea alelelor HLA-A și HLA-B. Teste statistice aplicate: t-Student și testul exact Fisher.

**Rezultate.** La pacienții cu amigdalite cronice și sindrom articular, tratați chirurgical, au fost diagnosticați următorii antigeni de histocompatibilitate: din clasa A [HLA-A2 - 45 (44,6%), HLA-A28 - 42 (41,6%), HLA-A24 - 24 (23,8%), HLA-AX - 10 (20,0%)] și din clasa B [HLA-B35 - 32 (31,7%), HLA-B44 - 18 (17,8%), HLA-BY - 15 (14,9%), HLA-B18 - 13 (12,9%)]. În lotul pacienților tratați medicamentos, cel mai frecvent au fost diagnosticați următorii antigeni HLA: din clasa A [HLA-A2 - 24 (48,0%), HLA-A28 - 22 (44,0%), HLA-A1 - 10 (20,0%), HLA-AX - 10 (20,0%)] și HLA din clasa B [HLA-B44 - 12 (24,0%), HLA-B35 - 11 (22,0%), HLA-B31 - 10 (20,0%), HLA-B18 - 8 (16,0%), HLA-BY - 8 (16,0%)].

**Concluzii.** Pentru optimizarea diagnosticului clinic și a prognosticului amigdalitei cronice cu sindrom articular, se recomandă aprecierea atât a variantei clinice a bolii, cât și analiza imunogenetică a patologiei (tipizarea HLA). Diferențe statistice semnificative între loturile de tratament conservativ și cel chirurgical al amigdalitei cronice cu sindrom articular s-au constatat doar pentru HLA-B31 și HLA-B45, care au predominat în grupul cu tratament conservativ.

**Cuvinte cheie:** amigdalită cronică, sindrom articular, artrită reactivă poststreptococică, febră reumatismală acută, antigeni leucocitari de histocompatibilitate.

## Introducere

Inflamația cronică a amigdalelor palatine constituie una dintre cele mai frecvente afecțiuni ORL. Circa 10-50% din populație suferă de amigdalită cronică [1].

Amigdalita cronică (AC) determină numeroase complicații locale și/sau la distanță (cardiovasculare, articulare, renale etc.), care duc la pierderea de lungă durată a capacității de muncă, invaliditate și costuri semnificative de asistență medicală [2].

Complicațiile infecției cu Streptococul  $\beta$ -hemolitic din clasa A ( $S\beta$ HA) sunt clasificate în nonsupurative și supurative. Febra reumatismală acută (FRA), artrita reactivă poststreptococică (ARPS) și glomerulonefrita acută reprezintă complicațiile nonsupurative majore care apar, în general, după 1-3 săptămâni de la debutul infecției cu  $S\beta$ HA.

Procesele autoimune, prezente în țesutul limfatic al amigdalelor, favorizează dezvoltarea afecțiunilor sistemice în organism. Conform datelor OMS, amigdalita este cauza a peste 120 de afecțiuni ale organismului [13]. Așadar, AC, prin consecințele sale asupra sănătății populației, reprezintă nu numai o problemă medico-biologică, dar și una socială [13].

Patogenia AC este complicată și diversă. Legăturile etiopatogenice dintre AC și alte boli intercurente nu sunt bine stabili-

**Material and methods.** Consecutive prospective study, on series of cases, which included 101 adult patients, aged 18-50 years, diagnosed with decompensated chronic tonsillitis; 50 patients received conservative treatment and 51 patients were treated surgically. Clinical and laboratory examination, relevant to ENT domain; identifying HLA-A and HLA-B alleles. Applied statistical tests: t-Student and Fisher exact test.

**Results.** In patients with chronic tonsillitis and articular syndrome, treated surgically, were diagnosed following histocompatibility antigens: from class A [HLA-A2 - 45 (44.6%), HLA-A28 - 42 (41.6%), HLA-A24 - 24 (23.8%), HLA-AX - 10 (20.0%)] and from class B [HLA-B35 - 32 (31.7%), HLA-B44 - 18 (17.8%), HLA-BY - 15 (14.9%), HLA-B18 - 13 (12.9%)]. In the group of patients treated conservatively, the most commonly were diagnosed following HLA antigens: from class A [HLA-A2 - 24 (48.0%), HLA-A28 - 22 (44.0%), HLA-A1 - 10 (20.0%), HLA-AX - 10 (20.0%)] and from class B [HLA-B44 - 12 (24.0%), HLA-B35 - 11 (22.0%), HLA-B31 - 10 (20.0%), HLA-B18 - 8 (16.0%), HLA-BY - 8 (16.0%)].

**Conclusion.** To optimize the clinical diagnosis and the prognosis of chronic tonsillitis with articular syndrome is recommended assessing both clinical variant of the disease and immunogenetics analysis of the pathology (HLA typing). Statistically significant differences between the conservative treatment group and the surgical treatment group of chronic tonsillitis with articular syndrome were found for HLA-B31 and HLA-B45 only, which prevailed in the conservative treatment group.

**Keywords:** chronic tonsillitis, articular syndrome, post-streptococcal reactive arthritis, acute rheumatic fever, histocompatibility leukocyte antigens.

## Introduction

The chronic inflammation of the tonsils is one of the most common ENT disease. About 10-50% of the population accuses chronic tonsillitis [1].

Chronic tonsillitis (CT) causes numerous local and/or remote complications (cardiovascular, joints, kidney etc.), leading to loss of long-term work abilities, disability and significant healthcare costs [2].

Streptococcus B-hemolytic class A ( $S\beta$ HA) infection complications are classified in non-weeping and weeping. Acute rheumatic fever (ARF), post-streptococcal reactive arthritis (PSRA) and acute glomerulonephritis are non-suppurative major complications occurring in general after 1-3 weeks from the onset of the infection with  $S\beta$ HA.

Autoimmune processes, present in the tonsillar lymph tissue, favors the development of systemic diseases in the body. According to WHO, tonsillitis causes more than 120 diseases of the body [13]. Therefore, CT, through its consequences on human health, is not only a medico-biological problem, but a social one also [13].

The CT pathogenesis is complex and diverse. The etiopathogenic links between CT and other diseases are not established. Studying the correlation level between local immunological disorders and systemic immune processes, phenomena

te. Estimarea gradului de corelare între dereglările imunologice locale, procesele imune sistemice și fenomenele care stau la baza reacției imune în zona dezvoltării unui proces inflamator izolat este importantă, cel puțin, din două puncte de vedere. Pe de o parte, aceste rezultate vor completa cunoștințele despre patogenia AC, iar pe de altă parte, ar da un impuls nou tratamentului patogen, fiind utile, totodată, la formarea unui prognostic [3].

Sunt propuse numeroase metode de tratament al AC, dar, în majoritatea cazurilor, nu se obține efectul dorit. Eficiența redusă a măsurilor de tratament este condiționată, într-o anumită măsură, de subaprecierea rolului imunogenetic al aspectului etiopatogenic al AC [16]. În ultimele decenii, au fost obținute rezultate evidente în studierea corelației dintre AC și antigenii complexului major de histocompatibilitate (CMH) – antigenii leucocitari de histocompatibilitate (HLA) [14, 15].

Funcția primară a CMH este de a permite sistemului imunitar identificarea și eliminarea agenților patogeni infecțioși [14]. Moleculele CMH reprezintă cel mai polimorf sistem genetic al omului. Moleculele CMH I reprezintă adevărate „certIFICATE de identitate” biochimică și genetică pentru fiecare organism, datorită polimorfismului lor biochimic foarte accentuat, în cazul în care fiecare antigen HLA are mai multe alele în cadrul unei populații [15]. Antigenii HLA contribuie la păstrarea homeostaziei biochimice a organismului și devin ținta sistemului imunitar în următoarele situații: după grefarea țesuturilor și organelor care poartă molecule incompatibile; după asocierea cu antigenii virali, tumorali sau induși de agenți chimici; după modificarea biochimică printr-un proces mutațional [16, 17].

Antigenii HLA sunt situați pe suprafața celulelor umane: antigenii HLA de clasa I – pe celulele nucleate, iar HLA de clasa II – pe celulele activate T, B și macrofage [15, 16].

Diversitatea biochimică la nivel individual, actualizarea și creșterea anuală a numărului de alele HLA identificate *de novo* stau la baza caracteristicii biochimice unice a fiecărui individ uman și este determinată de polimorfismul genetic. Din aceste considerente, genotiparea HLA a unei persoane este complicată și rămâne un obiectiv îndepărtat [16].

Dat fiind implicarea majoră a sistemului HLA în patogenia bolii, prin codificarea evoluției, prognosticului și efectelor tratamentului, prezența anumitor variante de gene ale complexului HLA ar putea orienta spre un tratament mai agresiv și cât mai precoce.

Astfel, scopul studiului respectiv a fost aprecierea impactului determinantelor antigenice HLA de clasa I (HLA-A și HLA-B) asupra tabloului clinic, evoluției și tacticii de tratament la pacienții cu AC decompensată, asociată cu sindrom articular.

### Material și metode

Studiul dat este unul de tip prospectiv, consecutiv, pe serie de cazuri, care a inclus 101 de pacienți adulți, cu vârsta cuprinsă între 18-50 de ani, diagnosticați clinic și instrumental cu AC decompensată și sindrom articular. Toți pacienții au dat acord informat în scris pentru înrolarea în studiu, care s-a derulat în secțiile ORL și Reumatologie ale IMSP Spitalul Clinic Municipal

underlying the immune response in the development of an isolated inflammatory process is important, at least from two points of view. On one hand, these results will complement the vision of AC pathogenesis, on the other hand, would give new impetus to pathogenic treatment, serving also as a basis to form a correct prognosis [3].

There are proposed various treatment methods of the CT, but in most cases, the desired effect is not achieved. The low efficiency of treatment measures is conditioned, to some extent, by underestimating the immunogenetics role of the etiopathogenic appearance of CT. In recent decades there were obtained obvious results in studying the correlation between CT and major histocompatibility complex antigens (MHC) – histocompatibility leukocyte antigens (HLA) [14, 15].

The primary function of MHC is to allow the immune system to identify and eliminate infectious pathogens [14]. MHC molecules represent the most polymorphic human genetic system. MHC I molecules are true biochemical and genetic „ID certificates” for each body due to a very pronounced biochemical polymorphism, in case each HLA antigen has more than one alleles in a population [15]. HLA antigens contribute to maintain the biochemical homeostasis of the body and become targets of the immune system in the following situations: after grafting the tissue and organs carrying incompatible molecules; after pairing with viral, tumor or induced by chemical agents antigens; after biochemical changes through a mutation process [16, 17].

HLA antigens are antigens, located on the surface of human cells: HLA class I antigen on the nucleated cells and HLA class II antigens on activated T, B cells and macrophages [15, 16].

The biochemical diversity at individual level, the update and annual growth in the number of newly identified *by novo* HLA stay at the bottom of the unique biochemical characteristic of each human being and is determined by genetic polymorphisms. Therefore, HLA genotyping of a person is complicated and it remains a distant objective [16].

Given the major implication of HLA system in the pathogenesis of the disease by encoding the treatment evolution, prognosis and effect, the presence of certain gene variants of HLA complex could turn to a more aggressive and quick treatment.

Thus, the purpose of this study was to evaluate the impact of antigenic determinants of HLA class I (HLA-A and HLA-B) on the clinical features, evolution and treatment strategy in patients with decompensated CT associated with articular syndrome.

### Material and methods

This is a prospective, consecutive study on series of cases that included 101 adult patients, aged 18-50 years, diagnosed clinically and instrumental with decompensated CT and articular syndrome. All patients gave written informed consent for enrollment in the study, which was conducted in ENT and Rheumatology wards of the Municipal Clinical Hospital „Sfânta Treime” in Chisinau and in the preventoria of the Technical University of Moldova, during the years 2008-2011.

Patients were divided into two groups: 50 patients who

„Sfânta Treime” din Chişinău și preventoriul Universității Tehnice din Moldova, pe parcursul anilor 2008-2011.

Pacienții au fost împărțiți în două grupuri: 50 de pacienți, care au fost tratați în mod conservativ (lotul conservativ) și 51 de pacienți, care au fost tratați prin metode chirurgicale (lotul chirurgical).

Pacienții au beneficiat de o examinare clinică și paraclinică primară complexă, repetată la 6 luni și la 12 luni după tratament.

Calcularea volumului eșantionului reprezentativ a fost efectuată în baza următoarei formule:

$$\text{unde: } n = \frac{1}{(1-f)} \times \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 P(1-P)}{(P_0 - P_1)^2}$$

$n$  – volumul eșantionului reprezentativ de cercetare pentru fiecare lot;

$f$  – proporția probabilă a persoanelor, care ar putea abandona studiul (estimată la 10%, sau  $f=0,1$ );

$P_0$  – proporția persoanelor cu cardiopatie, cu vârsta eligibilă pentru studiu (18-50 ani) în Republica Moldova constituie 69% sau  $P_0=0,69$ ;

$P_1$  – proporția persoanelor cu cardiopatie în lotul de cercetare ( $P_1=2,07$ ).

$$P = (P_0 + P_1) / 2 = (0,69 + 2,07) / 2 = 1,38$$

$$1 - P = 1 - 1,38 = -0,38$$

$Z_{\alpha}$  – valoare tabelară, când „ $\alpha$ ” – pragul de semnificație, este de 5%, respectiv, coeficientul  $Z_{\alpha}=1,96$ ;

$Z_{\beta}$  – valoare tabelară, când „ $\beta$ ” – puterea statistică a comparației, este de 10,0%, respectiv, coeficientul  $Z_{\beta}=1,28$ .

Introducând datele în formulă, s-a obținut:

$$n = \frac{1}{(1-0,1)} \times \frac{2(1,96 + 1,28)^2 1,38(-0,38)}{(0,69-2,07)^2} = 45$$

Astfel, numărul necesar de pacienți pentru testarea ipotezei de cercetare a fost de 45 pentru fiecare lot cercetat, însă pentru siguranța veridicității, au fost înrolați câte 50 de pacienți pentru fiecare grup.

Criteriile de includere în studiu au fost:

- diagnostic cert de AC, forma decompensată, asociată cu sindrom articular inflamator;
- dovezi ale genezei streptococice în afecțiunea cardiacă (valvulopatie) sau renală (glomerulopatie);
- vârsta de 18-50 de ani (vârsta maximală a fost limitată în baza Ghidului Internațional de conduită al pacienților cu infecție streptococică cronică, WHO, 2011, revizia 5);
- acordul confirmat în scris al pacienților pentru participare în studiu.

Criterii de excludere din studiu au fost:

- pacienți cu amigdalectomie în antecedente;
- diagnostic alternativ de spondiloartrită seronegativă sau maladii difuze ale țesutului conjunctiv;
- lipsa datelor microbiologice care ar confirma infecția streptococică;
- administrarea tratamentului antibacterian pe parcursul ultimelor 6 luni;

were treated conservatively (conservative group) and 51 patients who were treated surgically (surgical group).

Patients received a complex clinical and laboratory primary examination, repeated at 6 months and 12 months after treatment.

Calculation of the representative sample size was performed using the following formula:

$$\text{where: } n = \frac{1}{(1-f)} \times \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 P(1-P)}{(P_0 - P_1)^2}$$

$n$  – size of the research representative sample for each lot;  
 $f$  – probable proportion of people who could abandon the study (estimated at 10%, or,  $f=0.1$ );

$P_0$  – proportion of people with heart disease, with eligible age for the study (18-50 years) in Moldova is 69% or  $P_0=0.69$ .

$P_1$  – proportion of people with coronary heart in the research group ( $P_1=2.07$ ).

$$P = (P_0 + P_1) / 2 = (0.69 + 2.07) / 2 = 1.38$$

$$1 - P = 1 - 1.38 = -0.38$$

$Z_{\alpha}$  – tabular value, when „ $\alpha$ ” – materiality, is of 5%, accordingly, coefficient  $Z_{\alpha}=1.96$ .

$Z_{\beta}$  – tabular value, when „ $\beta$ ” – statistical power of the comparison, is of 10.0%, accordingly, coefficient  $Z_{\beta}=1.28$ .

Entering data in the formulation, there was obtained:

$$n = \frac{1}{(1-0.1)} \times \frac{2(1.96 + 1.28)^2 1.38(-0.38)}{(0.69-2.07)^2} = 45$$

Thus, the required number of patients to test the research hypothesis was 45 per researched lot, but for the safety of truthfulness, were enrolled 50 patients per group.

Inclusion criteria for the study were:

- certain diagnosis of CT, decompensated form, associated with inflammatory articular syndrome;
- evidence of streptococcal genesis in heart disease (valvular heart disease) or renal (glomerulopathy);
- aged 18-50 years (maximum age was limited by the International Guide of Conduct patients with chronic streptococcal infection, WHO, 2011 revision 5).
- written informed consent of patients for participation in the study.

Exclusion criteria from the study were:

- patients with tonsillectomy with a history;
- alternative diagnosis of seronegative spondylarthrosis or diffuse diseases of connective tissue;
- lack of microbiological data that would confirm streptococcal infection;
- administration of antibacterial therapy during the last six months;
- decompensated comorbidities: diabetes, viral hepatitis, cirrhosis, hematological diseases, nephrology (other than those caused by streptococcal infection), cancer or heart (other than those caused by streptococcal infection) etc.



- comorbidități decompensate: diabet zaharat, hepatite virale, ciroză hepatică, maladii hematologice, nefrologice (altele decât cele cauzate de infecția streptococică), oncologice sau cardiace (altele decât cele cauzate de infecția streptococică) etc.

Toți pacienții au beneficiat de următoarele examinări:

- examinare specializată ORL (identificarea AC decompensate cu sindrom articular; evaluarea afectării funcției articulare);
- examenul general al sângelui și urinei;
- explorări imunologice: proteina C-reactivă (PCR), antistreptolizina O (ASLO), complecși imuni circulanți (CIC);
- analiza bacteriologică a frotiului superficial din faringe/amigdale, pentru determinarea florei și sensibilității la antibiotice;
- tipizarea antigenilor HLA de clasa I (HLA-A și HLA-B) cu utilizarea antiserurilor standard;
- investigații instrumentale: ECG, EcoCG Doppler, scintigrafia scheletică, USG renală.

Hemoleucograma și VSH au fost determinate cu analizatorul hematologic PCE-210 (*AGD Biomedicals*, Mumbai, India). Analiza generală a urinei a fost efectuată conform metodei standard. Proteina C reactivă (PCR), factorul reumatoid și complexele imune circulante (CIC) au fost apreciate prin metoda de aglutinare calitativă și semicantitativă de detectare a PCR în serul uman. ASLO a fost determinată prin metoda standard de diluție consecutivă.

Culturile amigdalene superficiale au fost luate cu tampoane sterile de pe ambele amigdale și plasate în tuburi sterile. Specimenele după amigdalectomie au fost transmise pentru investigație histopatologică de rutină.

Identificarea configurației antigenice a HLA de clasa I (HLA-A și HLA-B) a fost efectuată prin tehnica standard în două etape de microlimfocitotoxicitate, propusă în 1973 și modificată în 1988 de către Terasaki. Au fost folosite plăci de microtitrare de godeuri, ce conțineau 180 de antiseruri standard pentru HLA clasa I (HLA-A și HLA-B). Principiul testului este bazat pe faptul că serurile anti-HLA reacționează cu antigenii limfocitari corespunzători. Adăugarea complementului modifică membrana celulară a limfocitelor astfel, încât eozina poate pătrunde în celule, modificându-le culoarea (reacție pozitivă).

Examenul scintigrafic scheletic s-a realizat în regim de corp integru, fiind injectat preparatul radiofarmaceutic Technetiu (Tc) 99 m (doza uzuală – 600,0 MBq, doza de iradiere – 60,0 mSv) în gamma-camera „Diacam-Siemens”.

Pacienții din grupul cu tratament conservativ au beneficiat de tratament local și sistemic.

Tratamentul local a constat în:

- înlăturarea focarului de infecție din amigdalele palatine prin spălarea criptelor cu soluții antiseptice (sol. NaCl 0,9%, sol. Dioxidină 1%, sol. Clorhexidină 0,2%);
- badijonarea mucoasei amigdalelor palatine cu soluții antiseptice (Lugol, Iodinol);
- aplicarea locală a aerosolilor (Streptocid, Benzidamină);

All patients received the following examinations:

- ENT specialist examination (identification of decompensated CT with articular syndrome, evaluation of impaired joint function);
- general examination of blood and urine;
- immunological explorations: C-Reactive protein (CRP), Antistreptolysine O (ASO), circulating immune complexes (CIC);
- smear bacteriological analysis of superficial throat / tonsils to determine flora and antibiotic susceptibility;
- typing of antigens HLA class I (HLA-A and HLA B) using standard antisera;
- instrumental investigations: ECG, Doppler EcoCG, skeletal scintigraphy, renal ultrasound.

Blood count and erythrocyte sedimentation rate were determined by hematology analyzer PCE-210 (*AGD Biomedicals*, Mumbai, India). General urine analysis was performed according to standard method. C-reactive protein (CRP), rheumatoid factor and circulating immune complexes (CIC) were assessed by semi-quantitative and qualitative agglutination method for the detection of CRP in human serum. ASO was determined by standard consecutive dilution method.

Tonsil surface cultures were taken with sterile pads from both tonsils and placed in sterile tubes. After tonsillectomy specimens were sent for histopathological routine investigation.

Identification of the antigenic configuration of HLA class I (HLA-A and HLA-B) was performed by standard two-step microlymphocytotoxicity technique proposed in 1973, and amended in 1988 by Terasaki. There have been used microtiter wells plates that contained 180 standard antisera for HLA class I (HLA-A and HLA-B). The main test is based on the fact that the anti-sera HLA react with the corresponding lymphocyte antigens. By adding the complement, it modifies the lymphocyte cell membrane so that eosin can penetrate into cells, changing their color (positive reaction).

Skeletal scintigraphy examination was performed in whole body mode, by injecting the radiopharmaceutical resource of Technetium (Tc) 99m (the usual dose – 600.0 MBq dose of radiation – 60.0 mSv) in gamma-camera „Diacam-Siemens”.

The patients in the conservative treatment received local and systemic treatment.

Local treatment consisted of:

- removal of infected crypts from palatine tonsils by washing with antiseptic solutions (sol. NaCl 0.9%, sol. Dioxidin 1% ground, Chlorhexidine 0.2%);
- sprinkling lining tonsils with antiseptic solutions (Lugol, Iodinol);
- local application of aerosols (Streptocid, Benzidamine);
- physio-procedures (ultrasound projection on the tonsils – 10-15 meetings, ultraviolet exposure – 10-15 meetings).

Systemic treatment consisted of:

- antibiotics according to antibiogram results;
- administration of antihistamines: Diphenhydramine, Promethazine, Clorpiramine, Mebidrolin;

- fizioproceduri (ultrasunet pe proiecția amigdalelor palatine – 10-15 ședințe, expunerea la raze ultraviolete – 10-15 ședințe).

Tratamentul sistemic a constat în:

- antibioterapie, conform rezultatelor antibiogrammei;
- administrare de antihistaminice: Difenhidramină, Prometazină, Cloropinamină, Mebhidrolină;
- administrare de imunostimulatoare: Imupret, Timolin, Timogen, Tactivin, Ribomunil, Bronhomunal, Prodigiozan, IRS-19, Levamizol, Imudon;
- vitaminoterapie.

Tratamentul chirurgical a constat în următoarele: ambele amigdale palatine au fost îndepărtate prin metoda ansei la rece, prin decolarea totală, capsulară, a amigdalei și secționarea pediculului amigdalian inferior cu ajutorul ansei. Metoda constă din 4 timpi operatori: tracțiunea amigdalei spre linia mediană, deschiderea lojii amigdaliene prin incizia mucoasei stâlpului anterior, introducerea ansei și secționarea hilului amigdalian, verificarea lojii amigdaliene și hemostaza mecanică.

Procesarea datelor primare a fost efectuată cu ajutorul programului SPSS, versiunea 21.0 pentru Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, 2012) la calculatorul personal prin proceduri statistice descriptive și inferențiale. Statistic semnificative am considerat diferențele, când valoarea bilaterală a fost  $p < 0,05$ .

## Rezultate

Loturile de studiu erau similare în funcție de repartizarea pe sexe și vârstă (Tabelul 1).

**Tabelul 1.** Caracterizarea generală a loturilor de studiu.

Parametru	Lot „tratament conservativ” (n=50)	Lot „tratament chirurgical” (n=51)	p
Repartizare pe sexe, n (%)			
Bărbați	8 (16,0%)	17 (33,3%)	>0,05 <sup>†</sup>
Vârsta, medie (ani ± ds)	30,9±1,8	28,1±1,5	>0,05 <sup>‡</sup>

Note: Test statistic efectuat: <sup>†</sup>- testul exact Fisher; <sup>‡</sup>- t-Student.

Caracterizarea loturilor de studiu, conform parametrilor clinici și paraclinici, este prezentată în Tabelul 2.

**Tabelul 2.** Caracterizarea loturilor de studiu conform parametrilor clinici și paraclinici.

Parametru	Lot „tratament conservativ” (n=50)	Lot „tratament chirurgical” (n=51)	p
Intensitatea durerii articulare, puncte SVA <sup>#</sup>	53,5	62,5	>0,05
Recidive de angină, %	33	0	NA <sup>*</sup>
Diametrul telesistolic al ventricolului stâng, mm	31,8	34,0	>0,05
ASLO <sup>‡</sup> , IU/mL	275,1	346,6	>0,05
PCR <sup>§</sup> , mg/dL	6,95	16,5	>0,05

Note: <sup>#</sup>- scor vizual-analogic (0-100 puncte); <sup>\*</sup>- testare statistică neaplicabilă; <sup>†</sup>- antistreptolizina O; <sup>‡</sup>- proteina C-reactivă. Test statistic efectuat: t-Student.

- administration of immuno-stimulatory: Imupret, Timolin, Timogen, Tactivin, Ribomunil, Bronhomunal, Prodigiozan, IRS-19, Levamisole, Imudon;
- vitamin therapy.

The surgical treatment consisted of the following: both palatine tonsils were removed by cold loop method, with total, capsular takeoff of amygdala and severing the inferior tonsillar pedicle using a loop. The method consists of 4-stroke operators: traction of the amygdala to the midline incision, tonsil lodge opening through mucosal incision of the anterior column, introduction of loop and cutting the tonsillar hilum, checking the tonsil lodge and mechanical hemostasis.

Primary data processing was performed using SPSS program, version 21.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, 2012) at the personal computer through descriptive and inferential statistical procedures. I considered statistically significant the differences when the bilateral value was  $p < 0.05$ .

## Results

Study groups were similar across age and the sex ratio (Table1).

**Table 1.** General characterization of study groups.

Parameter	Group "conservative treatment" (n=50)	Group "surgical treatment" (n=51)	p
Distribution by sex, n (%)			
Men	8 (16.0%)	17 (33.3%)	>0.05 <sup>†</sup>
Age, average (years ± sd)	30.9±1.8	28.1±1.5	>0.05 <sup>‡</sup>

Note: Performed statistical tests: <sup>†</sup>- Fisher exact test; <sup>‡</sup>- t-Student.

Characterization of study groups according to clinical and laboratory parameters is shown in Table 2.

**Table 2.** Characterization of study groups according to clinical and laboratory parameters.

Parameter	Group "conservative treatment" (n=50)	Group "surgical treatment" (n=51)	p
Joint pain intensity, points VAS <sup>#</sup>	53.5	62.5	>0.05
Recurrent angina, %	33	0	NA <sup>*</sup>
End-diastolic diameter of left ventricular, mm	31.8	34.0	>0.05
ASLO <sup>‡</sup> , IU/mL	275.1	346.6	>0.05
PCR <sup>§</sup> , mg/dL	6.95	16.5	>0.05

Note: <sup>#</sup>- visual analogue score (0-100 points); <sup>\*</sup>- statistical testing is not applicable; <sup>†</sup>- antistreptolysine O; <sup>‡</sup>- C-reactive protein. Performed statistical test: t-Student.

Afectarea monoarticulară la debutul bolii a fost relevantă statistic semnificativ mai frecvent la pacienții din lotul de tratament conservativ, comparativ cu pacienții din lotul de tratament chirurgical – 24 [54,0%] și, respectiv, 16 [31,4%],  $p < 0,05$ ), iar afectarea oligoarticulară – statistic semnificativ mai frecvent la pacienții din lotul de tratament chirurgical (30 [58,8%]) vs. (17 [34,0%],  $p < 0,05$ ).

În ambele loturi de studiu, după tratament, a fost relevată o reducere semnificativă a frecvenței acuzelor; totuși, la vizita a treia, rata disconfortului/durerilor în gât și rata durerilor articulare erau statistic semnificativ mai mici în lotul pacienților cu tratament chirurgical (Tabelul 3).

**Tabelul 3.** Caracterizarea loturilor de studiu la vizita inițială, peste 6 luni și peste 12 luni după tratament.

Parametru	Lot „trata- ment con- servativ” (n=50)	Lot „trata- ment chirurgical” (n=51)	p
Acuze (durere/disconfort în gât) la evaluarea inițială, %	38	47	>0.05
Acuze (durere/disconfort în gât) la evaluarea peste 6 luni, %	27	31	>0.05
Acuze (durere/disconfort în gât) peste 12 luni, %	44	18	>0.05
Dureri articulare la evaluarea inițială, %	50	51	>0.05
Dureri articulare peste 6 luni, %	41	45	>0.05
Dureri articulare peste 12 luni, %	44	36	>0.05

Notă: Test statistic efectuat: testul exact Fisher.

Concomitent cu tendința de reducere în dinamică a valorilor medii ale ASLO și PCR s-a redus statistic semnificativ la pacienții din lotul de tratament conservativ. În lotul pacienților cu tratament chirurgical, valorile medii ale indicatorilor imunologici (ASLO, PCR) au relevat o reducere statistic semnificativă la vizita a treia, comparativ cu vizita inițială și cu vizita a doua (Tabelul 4).

**Tabelul 4.** Evoluția parametrilor biochimici la pacienții din loturile de studiu.

Parametru	Lot „trata- ment conser- vativ” (n=50)	Lot „trata- ment chirur- gical” (n=51)	p
ASLO <sup>‡</sup> la evaluarea inițială, IU/mL	275,1	346,6	>0.05
ASLO peste 6 luni, IU/mL	220,0	282,3	>0.05
ASLO peste 12 luni, IU/mL	213,9	212,6	>0.05
PCR <sup>§</sup> la evaluarea inițială, mg/dL	6,95	16,5	>0.05
PCR peste 6 luni, mg/dL	2,8	12,9	>0.05
PCR peste 12 luni, mg/dL	3,6	4,4	>0.05

Notă: <sup>‡</sup>- antistreptolizina O; <sup>§</sup>- proteina C-reactivă. Test statistic efectuat: t-Student.

Mono articular impairment at the disease onset was revealed statistically significantly more frequently in patients in the conservative treatment group compared with patients in the surgical group – 24 [54.0%] and respectively, 16 [31.4%],  $p < 0.05$ ) and impaired oligo articular – statistically significantly more frequently in patients in the surgical treatment group (30 [58.8%]) vs. (17 [34.0%],  $p < 0.05$ ).

In both study groups, after treatment, it has been revealed a significant reduction in the frequency of complaints; however, at the third visit, the rate of discomfort / pain in the neck and joint pain rates were statistically significantly lower in the group of patients with surgical treatment (Table 3).

**Table 3.** Characterization of study groups at baseline, 6 months and 12 months after treatment.

Parameter	Group "con- servative treatment" (n=50)	Group "surgical treatment" (n=51)	p
Complaints (pain / discomfort in the throat) at initial evaluation, %	38	47	>0.05
Complaints (pain / discomfort in the throat) in the evaluation in 6 months, %	27	31	>0.05
Causes (pain / discomfort in the throat) in 12 months, %	44	18	>0.05
Joint pain at initial assessment, %	50	51	>0.05
Joint pain in 6 months, %	41	45	>0.05
Joint pain in 12 months, %	44	36	>0.05

Note: Performed statistical test: Fisher exact test.

Simultaneously with the dynamic trend of reduction in average values of ASLO, and CRP was statistically significantly reduced in patients in the conservative treatment group. In the group of patients with surgical treatment, mean immunological indicators (ASLO, PCR) revealed a statistically significant reduction from the third visit, compared to baseline and the second visit (Table 4).

**Table 4.** Evolution of biochemical parameters of patients in the study groups.

Parameters	Group "con- servative treatment" (n=50)	Group "surgi- cal treat- ment" (n=51)	p
ASLO <sup>‡</sup> at initial assesment, IU/mL	275.1	346.6	>0.05
ASLO in 6 months, IU/mL	220.0	282.3	>0.05
ASLO in 12 months, IU/mL	213.9	212.6	>0.05
PCR <sup>§</sup> at initial assesment, mg/dL	6.95	16.5	>0.05
PCR in 6 months, mg/dL	2.8	12.9	>0.05
PCR in 12 months, mg/dL	3.6	4.4	>0.05

Note: <sup>‡</sup>- antistreptolysine O; <sup>§</sup>- C-reactive protein. Performed statistical test: t-Student.

Analiza bacteriologică a frotiului faringian a constatat o tendință similară în ambele loturi de studiu: reducerea depistării *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* și *Streptococcus viridans* și, totodată, creșterea depistării *Staphylococcus aureus* la vizita a doua și la vizita a treia, comparativ cu vizita inițială, însă aceste tendințe nu au atins certitudine statistică.

La pacienții cu amigdalite cronice și sindrom articular din lotul cu tratament chirurgical, cel mai frecvent, au fost diagnosticați următorii antigeni de histocompatibilitate din clasa A și din clasa B (Tabelul 5).

**Tabelul 5.** Frecvența depistării alelelor complexului HLA-A și HLA-B în lotul pacienților tratați chirurgical.

Alele HLA	Frecvența depistării
HLA-A2	44,6%
HLA-A28	41,6%
HLA-A24	23,8%
HLA-AX	20,0%
HLA-B44	17,8%
HLA-B35	31,7%
HLA-B18	12,9%
HLA-BY	14,9 %

În lotul pacienților cu tratament conservativ al amigdalitei cronice și sindrom articular, cel mai frecvent au fost diagnosticați următorii antigeni HLA din clasa A și din clasa B (Tabelul 6).

**Tabelul 6.** Frecvența depistării alelelor complexului HLA-A și HLA-B în lotul pacienților tratați conservativ.

Alele HLA	Frecvența depistării
HLA-A2	48,0%
HLA-A28	44,0%
HLA-A1	20,0%
HLA-AX	20,0%
HLA-B44	24,0%
HLA-B35	22,0%
HLA-B31	20,0%
HLA-B18	16,0%
HLA-BY	16,0%

## Discuții

Există numeroase metode de tratament a AC, conservativ (local, general, profilactic) și chirurgical (amigdalectomia), însă, în majoritatea cazurilor, nu se atinge efectul dorit [1, 2]. În plus, la etapa actuală, medicii demonstrează o prudență ex-

The bacteriological analysis of pharyngeal smear found a similar trend in both study groups: reduced detection of *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus viridans*, and also increased detection of *Staphylococcus aureus* at the second and third visit compared to baseline, but these trends did not reach statistical certainty.

In the group of patients with surgical treatment of chronic tonsillitis with articular syndrome, the most common HLA antigens were diagnosed following Class A and Class B (Table 5).

**Table 5.** Detection frequency of complex alleles HLA-A and HLA-B in the group of patients treated surgically.

Alleles HLA	Detection frequency
HLA-A2	44.6%
HLA-A28	41.6%
HLA-A24	23.8%
HLA-AX	20.0%
HLA-B44	17.8%
HLA-B35	31.7%
HLA-B18	12.9%
HLA-BY	14.9%

In the group of patients with conservative treatment of chronic tonsillitis with articular syndrome, the most common HLA antigens were diagnosed following Class A and Class B (Table 6).

**Table 6.** Detection frequency of complex alleles HLA-A and HLA-B in the group of patients treated conservatively.

Alleles HLA	Detection frequency
HLA-A2	48.0%
HLA-A28	44.0%
HLA-A1	20.0%
HLA-AX	20.0%
HLA-B44	24.0%
HLA-B35	22.0%
HLA-B31	20.0%
HLA-B18	16.0%
HLA-BY	16.0%

## Discussion

There are proposed various methods of treatment of CT: conservative treatment (local, general, prophylactic) and surgery (tonsillectomy), but in most cases the desired effect is not achieved [1, 2]. In addition, at this stage doctors demonstrate an explained prudence regarding tonsillectomy, especially in



plicabilă *vis-a-vis* de amigdalectomie, mai ales la copii, când funcția fiziologică a acestor organe limfoide este maximală [5].

Eficiența redusă a măsurilor de tratament este condiționată, într-o anumită măsură, de subaprecierea rolului imunogenetic al aspectului etiopatogenic al AC. În ultimele decenii, au fost obținute rezultate evidente în studierea corelației dintre AC și antigenii CMH – HLA [14, 15].

Diagnosticul de AC uneori este dificil de stabilit, deoarece atât debutul, cât și evoluția bolii nu prezintă semne clinice specifice. Cele mai frecvente manifestări clinice ale AC sunt hipertrofia amigdaliană obstructivă și/sau AR. Simptomele AC (senzații dureroase și discrete în gât, odinofagia nepronunțată, disfagia, tuse uscată, halena, disconfort faringian, senzație de corp străin și jenă în gât, arsură și uscăciune în gât, subfebrilitate, dureri ale nodulilor limfatici submandibulari, dureri în articulații) se întâlnesc și în alte afecțiuni (faringite, laringite, esofagite, gastrite, sinuzite etc.) [3, 4].

Mai mulți cercetători au încercat să stabilească predispoziția genetică și răspunsurile imunitare de protecție pentru artrita reactivă poststreptococică (ARPS) și febra reumatică acută (FRA) [6, 7].

Validarea asociațiilor HLA, observate în diferite populații ale lumii, poate contribui la dezvoltarea unei strategii rentabile de prevenire primară a acestor leziuni [9]. A fost constatată o eterogenitate în ceea ce privește alelele HLA de clasa I și II de susceptibilitate și/sau de protecție în diverse studii, din diferite regiuni geografice și diferite grupuri etnice, deși au fost raportate și asociații cu anumite antigene [8, 10].

Mai mulți cercetători au încercat să stabilească predispoziția genetică și răspunsurile imunitare de protecție pentru ARPS și FRA [12, 13]. Discrepanțele privind frecvența antigenelor HLA de clasa I și HLA de clasa II la pacienții cu FRA și ACR în diferite studii sunt, probabil, legate de diferențele geografice sau rasiale în populații, paternelle variate de reactivitate la alo-antiser, diversele tulpini de SGA implicate în dezvoltarea FRA/ACR în diferite țări [15].

Din aceste considerente, genotiparea HLA a unei persoane este complicată și rămâne un obiectiv îndepărtat. Cercetări suplimentare, consacrate studierii rolului sistemului HLA în apariția, diagnosticul, evoluția și tratamentul AC sunt necesare a fi efectuate în viitor.

### Concluzii

Pentru optimizarea diagnosticului clinic și a prognosticului amigdalitei cronice cu sindrom articular, se recomandă aprecierea atât a variantei clinice a bolii, cât și analiza imunogenetică a patologiei (tipizarea HLA). Diferențe statistice semnificative între loturile de tratament conservativ și lotul de tratament chirurgical al amigdalitei cronice cu sindrom articular s-au constatat doar pentru HLA-B31 și HLA-B45, care au predominat în grupul cu tratament conservativ.

### Declarația de conflict de interese

Autorul declară lipsa conflictului de interese.

children, when the physiological function of these lymphoid organs is maximal [5].

The low efficiency of treatment measures is conditioned, to some extent, by underestimating the immunogenetics role of the Etiopathogenic appearance of CT. In recent decades there were obtained obvious results in studying the correlation between CT and MHC – HLA antigens [14, 15].

It is extremely difficult to establish the CT diagnosis because both the onset and progression of the disease do not show specific clinical signs. The most common clinical manifestations of CT are obstructive tonsillar hypertrophy and / or AR. CT symptoms (painful and discrete sensations in the throat, light sore throat, dysphagia, dry cough, bad breath, uncomfortable feeling in the throat, foreign body sensation and discomfort in the throat, burning and dryness in the throat, low grade fever, pain in the submandibular lymph nodes, pain in the joints) are met in other conditions too (pharyngitis, laryngitis, esophagitis, gastritis, sinusitis etc.) [3, 4].

More researchers have tried to determine the genetic susceptibility and protective immune responses to post-streptococcal reactive arthritis (PSRA) and acute rheumatic fever (ARF) [6, 7].

Validation of HLA associations, observed in various populations of the world, can contribute to the development of cost-effective primary prevention strategies of these lesions [9]. It was observed a heterogeneity in terms of HLA class I and II alleles of susceptibility and / or of protection in different studies in several geographical regions and ethnic groups, although associations with specific antigens have been reported [8, 10].

Several researchers have tried to determine the genetic susceptibility and protective immune responses to PSRA and ARF. The discrepancies in the frequency of HLA class I and HLA class II antigens at patients with ARF and reactive chronic tonsillitis (RCT), in different studies, are probably related to geographical or racial differences of population, the varied reactivity patterns aloantiser, various strains of SGA involved in the development of ARF/RCT in different countries [15].

Therefore, HLA genotyping of a person is complicated and it remains a distant goal. Further research devoted to studying the role of HLA system in the development, diagnosis, evolution and treatment of CT are required to be made in the future.

### Conclusions

To optimize the clinical diagnosis and the prognosis of chronic tonsillitis with articular syndrome is recommended assessing both clinical variant of the disease and immunogenetics analysis of the pathology (HLA typing). Statistically significant differences between the conservative treatment group and the surgical treatment group of chronic tonsillitis with articular syndrome were found for HLA-B31 and HLA-B45 only, which prevailed in the conservative treatment group.

### Declaration of conflicting interests

The author declares no conflict of interest.

## Referințe /references

1. Girbea Ș., Otorinolaringologie. București, 2000, p. 13.
2. Плужников М. С., Лавренова Г. В., Левин М. Я., Назаров П. Г., Никитин К. А. Хронический тонзилит. Клиника и иммунологические аспекты. СПб, «Диалог»; 2005, 222 с.
3. Bathala S., Eccles R. A review on the mechanism of sore throat in tonsillitis. *J. Laryngol. Otol.*, 2013; 127 (3): 227-232.
4. Popescu V. Indicațiile amigdalectomiei în infecțiile cavității bucale la copil. *Revista Română de Pediatrie*, 2007; vol. LVI, nr. 4, p. 341-349.
5. Brook I. Diagnosis and management of pharyngotonsillitis. *Israel. J. Emer. Med.*, 2008; 8 (2): 26-34.
6. Haydardedeoglu F., Tutkak H., Kose K. *et al.* Genetic susceptibility to rheumatic heart disease and streptococcal pharyngitis: association with HLA-DR alleles. *J. Compil.*, 2006; 68: 293-296.
7. Rajapakse C., Halim K., Al-Orainey I. *et al.* A genetic marker for rheumatic heart disease. *Br. Heart. J.*, 1987; 58 (6): 659-662.
8. Stanevicha V., Eglite J., Zavadzka D. *et al.* HLA class II DR and DQ genotypes and haplotypes associated with rheumatic fever among a clinically homogeneous patient population of Latvian children. *Arthritis. Res. Ther.*, 2007; 9 (3): R58.
9. El-Hagrassy N., El-Chennawi F., Zaki Mel S. *et al.* HLA class I and class II HLA DRB profiles in Egyptian children with rheumatic valvular disease. *Pediatr. Cardiol.*, 2010; 31 (5): 650-656.
10. Kijak G., Walsh A., Koehler R. *et al.* HLA class I allele and haplotype diversity in Ugandans supports the presence of a major east African genetic cluster. *Tissue. Antigens*, 2009; 73 (3): 262-269.
11. Guilherme L., Kalil J. Rheumatic fever: from innate to acquired immune response. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2007; 1107: 426-433.
12. Seckeler M., Hoke T. The worldwide epidemiology of acute rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Clin. Epidemiol.*, 2011, 3: 67-84.
13. Popescu C., Zainea V. Otorinolaringologie. Manual universitar. București, Editura Universitară Carol Davila, 2010.
14. Jeffery K. Bangham C. Do infectious diseases drive MHC diversity? *Microbes. Infect.*, 2000; 2 (11): 1335-1341.
15. Mehra N. Histocompatibility antigens. *Encyclop. Life. Sci.*, 2001; 5: 1-5.
16. Ahmed A., Aliyu I., Kolo E. Indications for tonsillectomy and adenoidectomy: our experience. *Niger. J. Clin. Pract.*, 2014; 17 (1): 90-94.
17. Shankarkumar U. The human leukocyte antigen (HLA) system. *Int. J. Hum. Genet.*, 2004; 4 (2): 91-103.