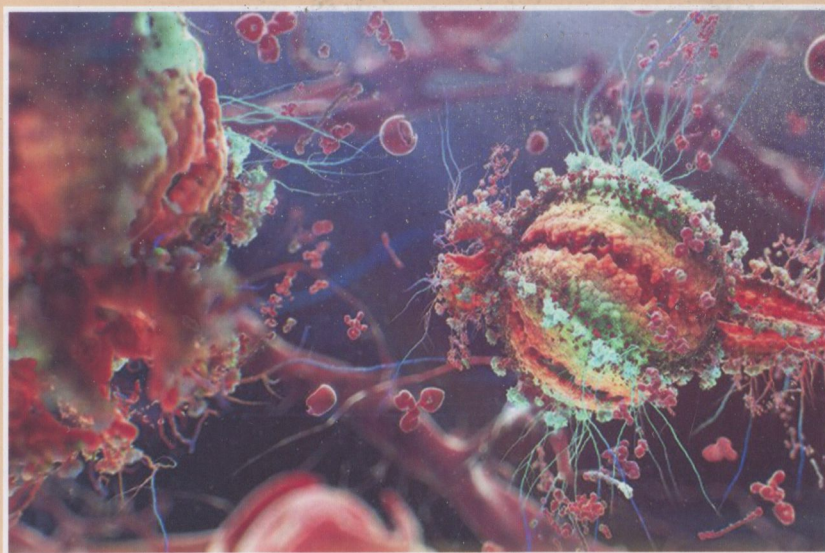


МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРИНЦИПЫ
ДИАГНОСТИКИ ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ
ДЕТЕЙ С ПАПИЛЛОМАТОЗОМ ГОРТАНИ**

методические рекомендации

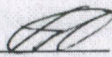


ТАШКЕНТ - 2018

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

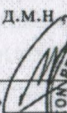

«СОГЛАСОВАНО»

Начальник отдела науки и
инновационного развития
д.м.н., профессор


Н.Л. Хабилов
«21» 05 2018 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник главного управления
науки и медицинского образования

д.м.н., профессор

У.С. Исмаилов
«21» 05 2018 г.


СОВРЕМЕННЫЕ ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ
ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ ДЕТЕЙ С ПАПИЛЛОМАТОЗОМ
ГОРТАНИ

(Методические рекомендации)

«Гасдикланди» ЎзР Соғлиқни сақлаш вазирлиги илмий фаолиятини мувофиқлаштириш Бўлими 21. 05 2018 84-Р/135

Ташкент – 2018

Махамадаминова Ш.А – к.м.н., соискатель кафедры оториноларингологии и стоматологии ТМА

Абдуллаева Н.Н. – д.м.н., доцент кафедры оториноларингологии и стоматологии ТМА

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Аманов Ш.Э

Профессор, заведующий кафедры оторинголарингологии, Детской оториноларингологии и стоматологии ТашПМИ

Маткулиев Х.М. –

Профессор кафедры оториноларингологии и стоматологии Ташкентской Медицинской Академии

Методические рекомендации рассмотрены на заседании ЦУМС ТМА «__» ____ 2018 года, протокол № __ .

Методические рекомендации рассмотрены на ученом совете ТМА и рекомендованы для утверждения в МЗ РУз.

Протокол № __ от «__» ____ 2018 г.

Ученый секретарь д.м.н., профессор

Методические рекомендации предназначены для ЛОР-врачей, специалистов других профилей – вирусологов-иммунологов, а также врачей первичного звена.

ВВЕДЕНИЕ

Благодаря современным достижениям фундаментальной и прикладной иммунологии, молекулярной биологии и биотехнологиям, в настоящее время появились новые биологически значимые показатели, которые могут помочь в работе практикующего врача отоларинголога, в частности в диагностике, лечении и в прогнозировании заболеваний, а также в подборе иммуотропных препаратов для проведения комплексной терапии. В связи с вышесказанным, в последние годы большое внимание уделяют не просто изучению клеточных и гуморальных факторов иммунитета, но изучению поведения иммунологических компонентов в зависимости от клинических особенностей заболевания, которые являются своеобразными показателями характера течения заболевания, особенно на фоне хронического длительного, либо рецидивирующего процесса [1,2,8,10]. В основном будут изучены адаптивные механизмы иммунитета. К этим факторам относятся клеточные факторы, которые формируют клеточное звено иммунитета, гуморальные факторы, формирующие гуморальное звено иммунитета: иммуноглобулины, циркулирующие иммунные комплексы различных величин, цитокины, в том числе интерфероны. Следует отметить, что перечисленные параметры иммунитета являются неспецифическими т.е. универсальными факторами, изучение которых на фоне конкретной нозологии и сопоставление полученных результатов с клиническими проявлениями заболевания имеют определенно важное, специфическое значение, т.к. именно вышеперечисленные показатели иммунной системы сопровождают все процессы патогенеза, развития заболевания, ее прогрессирования и исход.

Цитокины есть белки, которые продуцируются преимущественно активированными клетками иммунной системы, обеспечивающие функции межклеточных коопераций, позитивную и негативную иммунорегуляцию защитных функций организма [9,17]. Известно, что цитокины регулируют амплитуду и продолжительность воспалительного и иммунного ответов [9]. Важно выделить, сегодня, цитокины могут быть выделены в новую самостоятельную систему регуляции основных функций организма, существующую наряду с нервной и эндокринной системами, и связанную в первую очередь с поддержанием гомеостаза [139, 145, 176, 303]. Известно, что на тка-

невом уровне цитокины ответственны за развитие воспаления, а затем регенерации тканей гомеостаза [5,8]. При развитии системной воспалительной реакции цитокины оказывают влияние практически на все органы и системы организма, участвующие в регуляции гомеостаза [5,8,9,10]. Следует отметить, что в последние годы, исследования уровней цитокинов при различных заболеваниях человека базируются на том, что цитокины являются ключевыми факторами иммунопатогенеза целого ряда иммунозависимых состояний и заболеваний, в том числе и инфекционных и пролиферативных, таких как папилломатоз гортани у детей, где довольно широко признается роль инфекционного этиопатогенеза в его развитии и, следовательно, роль практически всех факторов иммунной системы в его развитии и прогрессировании [3,6,17].

Принято считать, что папилломатоз гортани является иммунодефицитным состоянием, и в литературе описывается как заболевание, относящиеся в патогенезе к вторичным иммунодефицитам, в связи с тем, что папилломатоз является хроническим рецидивирующим процессом. Установлено, что вторичный (приобретенный) иммунодефицит – это клиничко-иммунологический синдром, который развивается на фоне ранее нормально функционировавшей иммунной системы, характеризуется устойчивым выраженным снижением количественных и функциональных показателей специфических и/или неспецифических факторов иммунорезистентности и является зоной риска развития хронических инфекционных заболеваний, аутоиммунной патологии, аллергических болезней и опухолевого роста [1,5,18,20]. Следовательно, изучение состояния иммунореактивности детей с папилломатозом гортани является важным фактором, необходимым для установления глубины и объема формирования иммунодефицита, прогнозирования заболевания и самое главное выявление наиболее радикальных путей терапии, в том числе и иммунотропной терапии. В последние годы в мире наблюдается рост частоты иммунодефицитных (иммунозависимых) заболеваний. В связи с этим, изучение этиопатогенеза, а также количественных и функциональных факторов иммунной системы, клеточных, гуморальных и межклеточных параметров иммунитета представляет собой глобальную проблему медицины [4,8]. Исходя из вышесказанного, целью исследования иммунитета явилось изучение особенностей иммунного реагирования детей с папилломатозом гортани в за-

висимости от клинических вариантов течения заболевания и в зависимости от применяемых методов терапии. Перед нами были поставлены задачи для реализации данной работы. К ним относятся, изучение особенности клеточных и гуморальных параметров иммунитета при папилломатозе гортани у детей; выявление особенностей функционирования про- и противовоспалительных цитокинов, а также ключевых интерферонов в зависимости от клинических вариантов течения заболевания и в зависимости от применяемых методов терапии. Несмотря на значительное углубление в последнее десятилетие представлений в этиологии, иммунопатогенезе, течении и прогрессировании папилломатоза гортани у детей, многие вопросы, касающиеся механизмов развития патологического процесса и его прогрессирования, остаются открытыми.

Известно, что до недавнего времени механизмы иммунного ответа изучались на уровне отдельных популяций и субпопуляций клеток иммунной системы, при этом недостаточно рассматривались более глубокие механизмы, такие как цитокиновые и интерфероновые [6,8,9,10]. Известно, что в развитии и течении вирусных поражений важная роль принадлежит также и цитокинам, интерферонам, которые являются эндогенными биологически активными веществами, реализующими межклеточное взаимодействие [7,11]. В последние годы накапливается все больше данных о значимости иммунологических механизмов в развитии той или иной патологии, в том числе и при папилломатозе гортани у детей. Известно, что по данным литературы, инфекционно-воспалительные процессы приводят к глубоким нарушениям иммунологической реактивности [7,9,10,13]. Следовательно, исходя из вышесказанного нами проведена оценка клеточных и гуморальных факторов иммунной системы у детей папилломатозом гортани в зависимости от различных форм течения заболевания.

Особенности клеточных и гуморальных параметров иммунитета при папилломатозе гортани у детей

Клеточные показатели иммунитета определяли по относительному и абсолютному числу лейкоцитов, лимфоцитов, общего пула Т-лимфоцитов (CD3), Т-хелперов/индукторов (CD4) и Т-цитотоксических лимфоцитов (CD8), соотношению CD4/CD8 (иммунорегуляторный индекс - ИРИ), В-лимфоцитов (CD20). Анализ полученных результатов представлен в таблицах и рисунках. По современным

представлениям клетки, экспрессирующие CD4+, не обладают иммуногенными свойствами и являются неактивированными клетками, поэтому они получили название "нулевых" Т-хелперов (Th0). В результате иммунных реакций Т-хелперы дифференцируются в клетки Т-хелперы 1 типа или в Т-хелперы 2 типа, определяя, таким образом, путь развития иммунного ответа [10,14]. Как известно, эти клетки отличаются тем, что имеют собственный репертуар секретируемых медиаторов. Тх1, опосредующие клеточный иммунный ответ продуцируют провоспалительные цитокины, такие как ИФН- γ , ФНО- α и др. В свою очередь, Тх2, которые определяют гуморальный путь развития иммунного ответа, продуцируют противовоспалительные цитокины, такие как ИЛ-4, ИЛ-10 и др. [15]. Литературные знания нам необходимы, т.к. позволяют понять, что папилломатоз гортани, в патогенезе является смешанным типом иммунного ответа, в основе которого лежат как клеточные, так и гуморальные, и межклеточные изменения, формирующие сложный иммунопатогенез заболевания, терапия которого достаточно сложна и трудна.

Нами проанализированы иммунологические параметры детей с папилломатозом гортани в зависимости от клинического течения заболевания. Так, были выделены три группы детей с папилломатозом гортани: дети с непрерывно-рецидивирующим папилломатозом, дети с часто-рецидивирующим папилломатозом гортани и дети с редко-рецидивирующим папилломатозом гортани. Анализ полученных результатов показал, что среднее содержание лейкоцитов в периферической крови всех детей папилломатозом гортани достоверно не отличалось от показателей контрольной группой и между собой ($p > 0,05$). Выявлено, что наибольшее содержание лейкоцитов было характерно для детей с редко-рецидивирующим папилломатозом гортани и составило $7228,9 \pm 380,7$ кл/мкл, а самое низко содержание лейкоцитов характерно для детей с непрерывно-рецидивирующей формой заболевания. Изучено, что относительное содержание лимфоцитов между исследуемыми группами детей показало, что число лимфоцитов было достоверно повышено в группе детей с часто-рецидивирующей формой папилломатоза гортани по сравнению с контролем и с группой детей с редко-рецидивирующей формой заболевания. Так, у детей с непрерывно-рецидивирующей формой уровень лимфоцитов составил $35,6 \pm 1,9\%$, тогда как при часто-рецидивирующей формой — $39,4 \pm 1,84\%$, а при редко-рецидивирующей форме —

34,6±51,9%. Так, анализ иммунофенотипа Т-лимфоцитов у детей папилломатозом гортани в зависимости от клинического течения заболевания показал, что наличие достоверного подавления экспрессии CD3+ на Т-лимфоцитах по сравнению с данными контрольной группы детей и со значениями пациентов внутри групп ($p < 0,05$). Очевидно, снижение общего пула Т-лимфоцитов (CD3+) отмечалось в основном за счет подавления числа Т-лимфоцитов, которые экспрессируют CD4+. Было выявлено, что наименьшее содержание Т-лимфоцитов было выявлено в группе детей с непрерывно-рецидивирующим папилломатозом гортани. При этом, также показано, что относительное содержание Т-лимфоцитов в группах детей часто- и редко-рецидивирующими формами заболевания относительно друг друга не имели достоверной разницы. Далее изучено содержание основной регуляторной клетки иммунитета – Т-хелперов/индукторов. Показано в литературе, что CD4+Т-клеточный ответ на вирусные белки является важным механизмом защиты макроорганизма, поскольку CD4+Т-хелперы стимулируют продукцию антител В-лимфоцитами и активируют CD8+Т-лимфоциты, специфичные для вирусинфицированных клеток [5,9].

Анализ, проведенный при папилломатозе гортани позволил выявить, что наблюдается подавление экспрессии CD4+ на Т-лимфоцитах по сравнению со значениями контрольной группы ($p < 0,05$). Показано, что относительное и абсолютное содержание CD4+ Т-хелперов/индукторов во всех исследуемых группах детей был подавлен. Так, самое низкое значение CD4+ было выявлено в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза и составило 26,0±2,2%, тогда как в других группах составило 26,8±1,5% и 27,0±1,8%, а в контрольной группе - 32,9±1,2%. Известно, что цитотоксические CD8+Т-лимфоциты играют важную роль в патогенезе вирусных и пролиферативных заболеваний [18,19]. CD8+Т-лимфоциты играют главную роль в элиминации вируса, что обусловлено, с одной стороны, их способностью вызывать гибель инфицированных клеток, экспрессирующих соответствующие пептиды, презентированные молекулами МНС 1 класса, а с другой стороны – способность секретировать противовирусные факторы (провоспалительные цитокины) [3,8]. Анализ содержания CD8+Т-лимфоцитов между исследуемыми группами детей показал, что практически во всех исследуемых группах относительное число Т-цитотоксических лимфоцитов было повышено по сравнению с контрольной группой

($p < 0,05$). Причем, наибольшее число Т-цитотоксических лимфоцитов выявлено в группе детей с часто-рецидивирующей формой. Так, наибольшее содержание CD8+ Т-лимфоцитов выявлено в группе детей с часто-рецидивирующим папилломатозом гортани, что составило в данной группе $26,9 \pm 2,3\%$ и было достоверно повышено по сравнению с контрольной группой, где было равно $18,4 \pm 0,52\%$. По данным литературы известно, что при длительном хроническом инфекционном процессе постоянно обнаруживаются специфические цитотоксические Т-лимфоциты, которые могут оказать повреждающее действие на эпителиальные клетки [10,12]. При этом, абсолютные значения CD8+Т-лимфоцитов естественно достоверно различались от значений контрольной группы и между собой ($p < 0,05$). Следует отметить, что литературные данные показывают, что вирус способен персистировать даже при наличии CD8+лимфоцитов, что становится основным механизмом прогрессирования заболевания [15]. Существенное значение при вторичных инфекционных иммунодефицитных состояниях имеет иммунорегуляторный индекс (ИРИ), который является соотношением количества CD4+Т-хелперов/индукторов к количеству CD8+Т-лимфоцитов. Известно, что в норме ИРИ у здоровых составляет в среднем $1,49 \pm 0,02$. Очевидно, что подавление CD4+Т-хелперов/индукторов на фоне повышения числа CD8+Т-лимфоцитов приводит к снижению ИРИ. Наименьшее сниженное значение ИРИ отмечается в группе детей непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани по сравнению со значениями двух исследуемых групп детей, и составило $0,8 \pm 0,03$ в группе детей непрерывно-рецидивирующим папилломатозом гортани, а в группе контроля – $1,49 \pm 0,02$ ($p < 0,05$). Следовательно, значения ИРИ между исследуемыми группами детей различались достоверно ($p < 0,05$). Очевидно, что снижение ИРИ является важным критерием глубины Т – клеточного иммунодефицитного состояния при папилломатозе гортани у детей. Далее, нами было исследовано число естественных киллерных клеток (ЕКК), которые являются третьей популяцией лимфоцитов, обеспечивающих поддержание генетического гомеостаза, которые фенотипически и функционально существенно отличаются от Т- и В-лимфоцитов [5,9]. Нами изучены ЕКК с фенотипами CD16+. Выявлено достоверное повышение относительного числа CD16+ ЕКК при папилломатозе гортани. Более того, показано, что наибольшее число ЕКК вы-

явлено в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. Причем, выявленное повышение ЕКК было достоверно повышено по сравнению со значениями контрольной группы и значениями двух других групп детей ($p < 0,05$). Так, в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани относительное число CD16+ ЕКК составило $23,8 \pm 1,3\%$, тогда как в группе контроля $18,6 \pm 1,24\%$. Далее, нами был изучен уровень В-лимфоцитов, основных регуляторных клеток иммунной системы, имеющих важное значение в развитии гуморального иммунитета. Показано, что наряду с Т-лимфоцитами, В-лимфоциты являются основными эффекторами иммунитета [15, 34, 64]. Нами изучено содержание В-лимфоцитов по экспрессии CD20+ рецепторов, участвующих в активации В-лимфоцитов. Изучение содержания CD20+В-лимфоцитов позволило выявить наличие достоверного повышения в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани в сравнении со значениями контрольной группы ($p < 0,05$). Более того, выявлено, что наибольшее содержание В-лимфоцитов также выявлено в данной группе детей и составило $23,2 \pm 1,2\%$, а контрольной группе - $19,4 \pm 0,72\%$. А самое низкое значение В-лимфоцитов выявлено в группе детей с редко-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. Но при этом, абсолютные значения CD20+В-лимфоцитов между исследуемыми группами и с данными контроля достоверно не различались. Очевидно, что повышенная экспрессия CD20+ на В-лимфоцитах при папилломатозе гортани свидетельствует об активном участии В-лимфоцитов в противовирусном иммунном ответе, но следует отметить, что протективная эффективность в условиях персистенции вируса ограничена [3,7,12,17]. Несмотря на это, исследование содержания В-лимфоцитов является важным критерием, позволяющим оценить глубину иммунодефицита и определить последующие действия в плане диагностики и лечения папилломатоза гортани у детей. Далее, нами представлен анализ гуморального звена иммунитета при папилломатозе гортани. Установлено, что функциональная полноценность В-лимфоцитов в противовирусном иммунном ответе характеризуется выработкой иммуноглобулинов [4,8]. Известно, что иммуноглобулины играют важную функцию посредников в каскадном развитии иммунного ответа и частично могут обуславливать эффективность конечных, эффекторных реакций клеточного иммунитета по инактивации

и элиминации вирусных антигенов. Также, известно, что циркулирующие антитела являются одним из эффекторных факторов иммунитета, оказывающего антигенспецифическую защиту [1]. Проанализированы сывороточные концентрации основных иммуноглобулинов IgG, IgA, IgM при папилломатозе гортани у детей в зависимости от клинического течения заболевания. Как видно из представленных данных, содержание основных иммуноглобулинов сыворотки крови варьировало в широких пределах. Причем, было выявлено истощение IgG в группе детей с папилломатозом гортани с непрерывно-рецидивирующей формой. Также, было выявлено, что содержание IgM было достоверно снижено в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой по сравнению с данными контрольной группы и данными других групп. Так, сывороточное содержание IgG составило в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза в среднем $1092,2 \pm 56,8$ мг%, тогда как в группе детей с часто-рецидивирующей формой - $1155,8 \pm 38,8$ мг%. В контрольной группе содержание IgG составило $1128,5 \pm 42,7$ мг%. Анализ содержания IgA позволил выявить наличие достоверного повышения IgA в сыворотке крови всех детей с папилломатозом гортани. Причем, выраженное повышение IgA отмечено в группе детей с часто-рецидивирующей формой папилломатоза гортани и составило $152,8 \pm 9,2$ мг%, а в группе контроля - $118,2 \pm 7,4$ мг%. Сравнительный анализ содержания IgA между другими исследуемыми группами детей, достоверной разницы не выявил ($p > 0,05$). Следовательно, гуморальное звено иммунитета характеризовалось повышением сывороточных концентраций IgG и IgA в группе детей с папилломатозом гортани.

Известно, что активационные маркеры лимфоцитов начали изучаться относительно недавно, поэтому в литературе освещены малочисленные работы, посвященные функциональной активности активационных маркеров лимфоцитов, в частности при инфекционных заболеваниях [5,15]. Из имеющихся литературных данных видно, что важное научное и практическое значение имеет изучение активационных маркеров лимфоцитов, особенно при инфекционных заболеваниях т.к. анализ активационных маркеров лимфоцитов позволяет изучить процессы активации, пролиферации, дифференцировки и апоптоза иммунокомпетентных клеток и характеризует связанные с этими процессами клеточные циклы [19]. Так, нами были изучены маркеры лимфоцитов, такие как CD23+, CD38+ и CD95+.

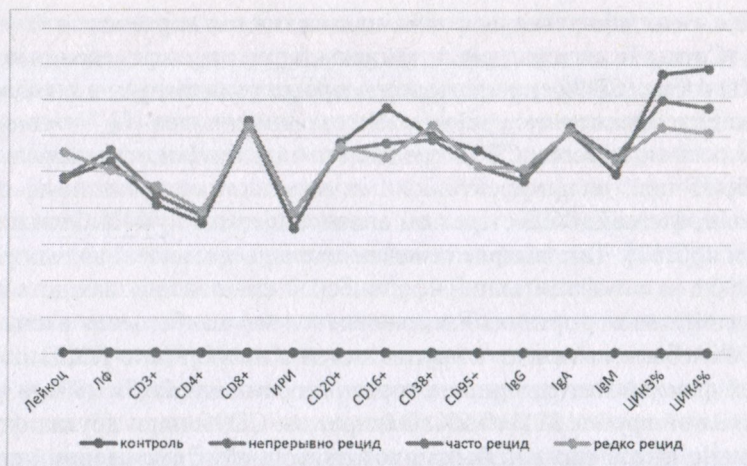


Рис. 1. Состояние иммунореактивности детей папилломатозом гортани в зависимости от клинического течения заболевания

Известно, что CD38+ - активационный маркер, представленный трансмембранным гликопротеином, который рассматривается как мультифункциональный белок [2,4,14,18]. CD38+ является предшественником плазматических клеток. Он экспрессирован на незрелых Т-лимфоцитах и В-лимфоцитах, активированных Т-лимфоцитах, плазмацитах [1]. Анализ по изучению экспрессии CD38+ на лимфоцитах позволил выявить достоверное повышение данного маркера в группах детей с папилломатозом гортани в сравнении с данными контрольной группы ($p < 0,05$). Причем, разница в экспрессии данного маркера была достоверной во всех группах детей. Так, экспрессия CD38+ при непрерывно-рецидивирующей форме папилломатоза составила $27,8 \pm 2,14\%$, а в группе часто-рецидивирующей формой – $29,2 \pm 1,40\%$, в группе редко-рецидивирующей формой – $31,4 \pm 1,20\%$, тогда как норма при этом была равна $23,4 \pm 0,58\%$. Так, видно, что экспрессия CD38+ на лимфоцитах между исследуемыми группами детей отличалась ($p < 0,05$). Следовательно, анализ показал, что рост экспрессии CD38+ маркеров активации при папилломатозе гортани у детей свидетельствует о наличии активации как клеточных, так и гуморальных факторов воспаления. Более того, данный фактор, свидетельствует об истощении клеточного звена иммунитета при непрерывно-рецидивирующей форме папилломатоза гортани и обратно, о наличии воспалительного потенциала лимфоцитов при часто- и

редко-рецидивирующих формах папилломатоза гортани.

Согласно литературным данным, существуют сведения о роли АРО-1/Fas (CD95+) рецепторов в процессе апоптоза, а его степень является отражением уровня апоптоза лимфоцитов [6]. Установлено, что рост экспрессии CD95+ рецепторов на лимфоцитах указывает на избыточный и неэффективный процесс стимуляции лимфоцитов крови, что свидетельствует об апоптотическом пути гибели лимфоцитов [7,17]. Так, выявлена незначительно повышенная экспрессия CD95+ на лимфоцитах периферической крови в группах детей с папилломатозом гортани. Так, выявлено, что наибольшая экспрессия CD95+ была выявлена в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани, составила $26,7 \pm 1,3\%$, а в контрольной группе $22,4 \pm 0,5\%$. Экспрессия CD95+ при других формах папилломатоза гортани была промежуточной и достоверно не отличалась от значений контрольной группы ($p > 0,05$). Усиление экспрессии маркера апоптоза является характерным признаком вирусного гепатита и, возможно, апоптоз вирусспецифических Т-клеток играет определенную роль в подавлении клеточного звена иммунитета [6,11]. Очевидно, избыточный апоптоз в сочетании активации гуморального звена иммунитета и глубокого Т-клеточного иммунодефицита способствует прогрессированию заболевания. Известно, что CD23+ является специфическим рецептором иммуноглобулина Е. Известно, что под влиянием ИЛ-4 CD23+ начинает продуцироваться В-клетками и моноцитами в растворимой форме [3,9,20]. Высокие уровни CD23+ наблюдаются при инфекционных и аутоиммунных заболеваниях [14]. Анализ экспрессии данного маркера показал, что экспрессия CD23+ молекулы заметно повышена во всех группах детей с папилломатозом гортани. Причем, следует отметить, что наибольшее повышение наблюдается в группе детей с часто-рецидивирующей формой. Так, в группе детей с часто-рецидивирующей формой папилломатоза гортани экспрессия CD23+ в среднем составила $34,5 \pm 2,5\%$, в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой - $25,8 \pm 0,9\%$, в группе детей с редко-рецидивирующей формой - $24,9 \pm 1,2\%$, что имело достоверную разницу с контрольным значением ($p < 0,05$). Отсюда следует, что повышенная экспрессия CD23+ молекулы показывает и доказывает наличие длительно персистирующей хронической вирусной инфекции. Следовательно, анализ активационных маркеров лимфоцитов свидетельствует об подтвер-

жденной важной роли активационных маркеров лимфоцитов в иммунном ответе при длительно-текущих заболеваниях. Таким образом, анализ полученных результатов при папилломатозе гортани в зависимости от клинического течения заболевания позволило выявить выраженные изменения как в клеточном звене иммунитета, которые проявляются подавлением CD3+Т-лимфоцитов, CD4+Т-хелперов, ИРИ, повышением числа CD8+Т-лимфоцитов, CD16+клеток, так и в гуморальном звене иммунитета – повышением сывороточных концентраций IgG и IgA. Более того, анализ активационных маркеров лимфоцитов показал повышенную экспрессию CD38+, CD23+ и CD95+. Осталось описать один из самых важных гуморальных маркеров иммунитета, это циркулирующие иммунные комплексы. Установлено, что одной из важнейших биологических функций иммуноглобулинов является связывание антигена и образование циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) [14]. Важной характеристикой ЦИК является их величина. Выявлено, что при папилломатозе гортани наблюдается повышенное содержание циркулирующих иммунных комплексов. Причем, наблюдается повышение средних значений ЦИК 3% (крупных величин) и 4% (мелких величин). Так, нами установлено, что самое высокое среднее значение мелких и крупных ЦИК было характерно для пациентов непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. При других видах папилломатоза гортани тоже наблюдается достоверное повышение ЦИК мелких и крупных.

Известно, что ЦИК 3%, образованные при избытке антител, хотя способны связывать комплемент, но имеют большие размеры, нерастворимы, быстро фагоцитируются и обладают низкой патогенностью [2,14]. Наибольшим патологическим потенциалом обладают растворимые иммунные комплексы мелких размеров, которые сформировались при избытке антигена [4,6]. Высокий уровень ЦИК при может быть обусловлен не только активацией иммунного ответа на вирусные антигены, но и подавлением механизмов их элиминации [5,9]. Последнее при этом, видимо, связано с ослаблением функции клеток моноцитарно-макрофагальной системы – клеток, которые поглощают и дезинтегрируют иммунные комплексы [6,9,10,14]. Следовательно, наблюдается активация гуморального звена иммунитета наряду с выраженной депрессией клеточного звена иммунитета. Таким образом, исходя из полученных результатов видно, что при длительном хроническом течении с рецидивами папилломатозе гортани

наблюдается выраженный дисбаланс клеточного и гуморального звеньев иммунной системы. Причем, дисбаланс в клеточном звене иммунитета выражался в подавлении ИРИ за счет снижения количества Т-хелперов/индукторов и повышения Т-цитотоксических лимфоцитов. Циркулирующие иммунные комплексы крупных и мелких величин были повышены, однако, наибольшее повышение ЦИК наблюдалось при непрерывно-рецидивирующей форме папилломатоза гортани. Очевидно, при данной патологии Т – клеточный иммунный ответ существенно слаб и направлен против меньшего числа эпитопов, что позволяет предполагать клональное истощение Т-лимфоцитов. В свою очередь, пониженная иммунореактивность Т - клеточного звена при папилломатозе гортани может рассматриваться как результат нарушения представления антигена клеткам иммунной системы, а также нарушение функции самих Т-клеток [13].

С целью анализа и выявления особенностей реагирования иммунной системы при различных клинических вариантах папилломатоза гортани был проведен сравнительный анализ полученных показателей между собой. Полученный анализ представлен на рисунке 1. На данном рисунке представлен полученный анализ основных маркеров иммунитета в зависимости от клинического течения заболевания.

Изучение субпопуляций лимфоцитов позволило выявить подавление относительного содержания Т-хелперов/индукторов. Так, их содержание было подавлено на 71,8% в группе детей непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани; на 76% в группе детей часто-рецидивирующей формой папилломатоза гортани и на 78,4% по отношению к 100% нормативных значений при редко-рецидивирующей форме папилломатоза гортани. Следовательно, наибольшая глубина подавления клеточного иммунитета была характерна в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. Важным, оказался тот факт, что наблюдалось повышенное значение Т-цитотоксических лимфоцитов. Причем, в группе детей с часто-рецидивирующей формой папилломатоза гортани число Т-цитотоксических лимфоцитов было наибольшим. Вследствие этого, выявлено, что ИРИ самым низким и подавленным был в группе больных непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани, когда приближенным к норме ИРИ был выявлен в группе детей редко-рецидивирующей формой папииломатоза гор-

тани. Изучение содержания В-лимфоцитов не выявил наличия достоверных отличий, но наибольшее число В-лимфоцитов было отмечено в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой, что свидетельствует об активном участии гуморального иммунитета. Изучение противoinфекционных биомаркеров иммунитета позволило выявить высокую активность естественно киллерных клеток (ЕКК). Так, было выявлено, что ЕКК значительно был повышен в группе детей непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани, тогда как наименьшее его число наблюдалось в группе детей редко-рецидивирующей формой. Сравнительный анализ основных иммуноглобулинов в сыворотке периферической крови показал, что наблюдалась выраженная активация гуморального звена иммунитета. Причем, наибольшие значения иммуноглобулинов встречались в группе больных часто-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. Следует отметить, что достоверных различий в содержании иммуноглобулинов между группами не выявлено, наблюдается тенденция к снижению содержания иммуноглобулинов по мере тяжести и непрерывности активации патологического процесса. Так, изучение содержания ЦИК мелких и крупных величин показало, что наибольшее содержание ЦИК обеих величин наблюдалось в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. Особенно важным диагностическим критерием явились патогенные ЦИК мелких величин. Таким образом, полученные нами данные подтверждают глубокий Т-клеточный иммунодефицит на фоне проактивации В-клеточного (гуморального) иммунного ответа, который не эффективен в борьбе с внутриклеточной вирусной инфекцией. Нами установлено, что главную роль в уничтожении инфицированных клеток играет Т - клеточный иммунный ответ, и при папилломатозе гортани он недостаточно активирован.

Состояния интерферонового статуса при папилломатозе гортани в зависимости от клинического течения заболевания

Сегодня широко освещены данные об иммунологических параметрах клеточного и гуморального факторов иммунитета в отдельности при различных заболеваниях [10,17]. Однако, вопросы, которые касаются изучения основных цитокинов иммунной системы, в том числе и интерферонов остаются открытыми. Так, одним из важных направлений современной медицины, работающей на стыке с молекулярной биологией, является исследование роли цитокинов и

интерферонов в патогенезе развития и прогрессирования папилломатоза гортани.

Следует отметить, что система интерферонов является интегральной частью иммунной системы, которая обеспечивает координацию пролиферации, дифференцировки и активации эффекторных клеток иммунитета. Оценкой функционального состояния системы интерферонов является интерфероновый статус [8,9]. В своем роде, ИФН- γ является цитокином, продуцируемым ТХ1 – типа [6]. Доказано, что ИФН- γ обладает противовирусной и тумороцидной активностью; активирует моноциты и макрофаги, натуральные киллеры (цитотоксичность), пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов: стимулирует созревание костномозговых клеток – предшественников моноцитов; подавляет опухолевый рост, размножение вирусов в клетках, пролиферацию, продукцию и секрецию цитокинов ТХ2 лимфоцитами (ИЛ-4, ИЛ-10 и др.), пролиферацию В-лимфоцитов и синтез иммуноглобулина Е, пролиферацию соматических клеток, секрецию иммуноглобулинов G, усиливает дифференцировку опухолевых клеток, противовирусную, противомикробную, антипаразитарную резистентность и тумороцидную активность ФНО- α , а так же противовирусную активность ИФН- α [6,8]. Проведенные нами исследования по изучению основных интерферонов иммунной системы показали, что выявлены достоверно различающиеся отличия при сравнении значений групп с контролем и между собой. Так, изучение ИФН-альфа показало, что в норме его уровень составил $44,25 \pm 3,4$ нг/мл, тогда как при редко-рецидивирующей форме папилломатоза гортани его уровень составил - $17,6 \pm 2,62$ нг/мл. Следует отметить, что наибольшее значение ИФН-альфа в сыворотке крови было выявлено при редко-рецидивирующей форме папилломатоза гортани, тогда как при других формах его значение было промежуточным. Если посмотреть соотношение между значениями ИФН-альфа, то видно, что при непрерывно-рецидивирующей форме папилломатоза гортани уровень ИФН-альфа подавлен в 3,8 раза, при часто-рецидивирующей форме – в 3,4 раза, а при редко-рецидивирующей форме – в 2,5 раза. Следовательно, наблюдается истощение интерферонов в группе больных непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. При сравнении значений ИФН-альфа между группами видно, что наименьшее содержание противовирусного белка ИФН-альфа было в группе детей непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани.

Далее нами описаны антитела к ИФН-альфа. Следует сказать, что их уровень тоже менялся в зависимости от клинического течения заболевания и от уровней ИФН-альфа в крови. Если посмотреть на антитела к ИФН-альфа, то видно, что во всех группах больных они были повышены по сравнению с данными контрольной группы и имели достоверные отличия. Так, наибольшее содержание антител к ИФН-альфа было выявлено в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой гортани. Вот так, мы можем объяснить подавление содержания ИФН-альфа в крови, когда значение антител к нему повышены. При сравнении между групп, достоверная разница была выявлена в группе детей редко-рецидивирующей формой папилломатоза гортани по сравнению с непрерывно-рецидивирующей формой. Изучение соотношения антител к ИФН-альфа между группами позволило выявить следующие соотношения. Так, при непрерывно-рецидивирующей форме концентрация антител к ИФН-альфа была повышена по сравнению к нормальным значениям в 2,6 раза, при часто-рецидивирующей форме – в 2,3 раза, а при часто-рецидивирующей форме – в 2 раза. Следовательно, наблюдается повышение образования антител к ИФН-альфа, что способствует аутоиммунизации патологического процесса и его прогрессированию. Так, в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани наблюдается самое высокое значение антител к ИФН-альфа, что в свою очередь свидетельствует об аутоиммунизации и клинически о непрерывно-рецидивирующем процессе. Далее нами было изучено содержание ИФН- γ в сыворотке крови детей папилломатозом гортани. Анализ показал, что во всех исследуемых группах детей наблюдается повышение уровня ИФН-гамма относительно контрольных данных ($p < 0,05$). При исследовании выявлено, что наибольшее значение ИФН-гамма было характерно для детей редко-рецидивирующей формой папилломатоза гортани, тогда как наименьшее значение наблюдалось при часто-рецидивирующей форме папилломатоза гортани. Полученные данные представлены в таблице 1.

Соотношения данных показали, что в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани содержание ИФН-гамма было повышено в 3,5 раза, при часто-рецидивирующей форме – в 2,4 раза, а при редко-рецидивирующей форме – в 5 раз. Как видно, самое высокое значение ИФН-гамма наблюдается в группе детей редко-рецидивирующей формой папилломатозом гортани.

Таблица 1.

Состояние основных интерферонов при папилломатозе гортани у детей, $M \pm m$, нг/мл

Группы обследованных	ИФН- α	ИФН- γ	Антитела к ИФН- α
Непрерывно-рецидивирующая форма	11,8 \pm 2,2*	13,7 \pm 1,9*	8,4 \pm 1,7*
Часто-рецидивирующая форма	13,2 \pm 2,4*	9,2 \pm 1,9 [^]	7,2 \pm 1,3*
Редко-рецидивирующая форма	17,6 \pm 2,62* [^]	19,7 \pm 2,1* [^]	6,4 \pm 1,29* [^]
Контроль	44,25 \pm 3,4	3,86 \pm 0,48	3,2 \pm 0,64

Примечание: * - достоверность различий с данными группы контроля, [^] - различия с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани

По данным литературы известно, что цитокины ТХ1 типа обладают выраженными противовирусными и противовоспалительными функциями, особенно при вирусных и пролиферативных процессах. В наших исследованиях выявлена такая же тенденция к активации цитокинов ТХ1 типа, но и выявлена активации ТХ2 - типа клеток [1,9]. На основании полученных данных, мы можем говорить, что по мере прогрессирования заболевания наблюдается подавление ИФН-альфа, повышение антител к ИФН-альфа и подавление ИФН- γ .

Известно, что прямым антивирусным действием, а также опосредованной иммуномодулирующей активностью обладает ИФН- α , играющий одну из основных ролей в элиминации вируса гепатитов. ИФН- α вырабатывается практически всеми клетками организма, но в наибольшей мере макрофагами и лимфоцитами. ИФН- α является мощным противовирусным белком [4,8].

Таким образом, интерфероны образуют группу полифункциональных белковых структур с выраженным противовирусным и противоопухолевым действием. Как известно, в основе этих эффектов лежат процессы транскрипции и трансляции, пролиферации и дифференцировки, экспрессии мембранных антигенов и многие другие [12]. Изучение цитокинов, в том числе и интерферонов позволит нам получить информацию о функциональной активности иммунокомпетентных клеток, о тяжести и прогнозе патологического процесса.

Следовательно, результаты изучения цитокинов и интерферонов имеют как научное, так и важное практическое значение в иммунологической диагностике и клинической практике. Очевидно, что более углубленные исследования в этом направлении необходимы. В связи с этим, нами изучены иммунологические параметры детей папилломатозом гортани в зависимости от клинических вариантов течения. Исследование клеточных параметров иммунной системы выявило наибольшее число лейкоцитов, характерных для детей с редко-рецидивирующим папилломатозом гортани, а самое низкое содержание лейкоцитов характерно для детей с непрерывно-рецидивирующей формой заболевания. Что уже свидетельствует о наличии клеточного иммунодефицита. Общее число лимфоцитов было достоверно повышено в группе детей с часто-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. Изучение фенотипических маркеров Т-лимфоцитов выявило подавление экспрессии CD3+ на Т-лимфоцитах во всех группах детей с папилломатозом. Наименьшее содержание Т-лимфоцитов наблюдалось в группе детей с непрерывно-рецидивирующим папилломатозом гортани. Самое низкое значение CD4+ Т-лимфоцитов выявлено в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза. Относительное число Т-цитотоксических лимфоцитов CD8+Т-лимфоцитов было повышено во всех исследуемых группах детей. Наибольшее число Т-цитотоксических лимфоцитов выявлено в группе детей с часто-рецидивирующей формой. Изучение ИРИ показало, что наименьшее сниженное значение ИРИ отмечается в группе детей непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. Очевидно снижение ИРИ является важным критерием глубины Т – клеточного иммунодефицитного состояния при папилломатозе гортани у детей. Выявлено достоверное повышение числа CD16+ ЕКК при папилломатозе гортани. Наибольшее число ЕКК выявлено в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. Изучение содержания CD20+В-лимфоцитов позволило выявить наличие достоверного повышения в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. Наибольшее содержание В-лимфоцитов также выявлено в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой, а самое низкое значение В-лимфоцитов - в группе детей с редко-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. Повышенные значения экспрессия CD20+ на В-лимфоцитах при папилломатозе гортани свидетельствует активации противовирусного иммунного ответа,

однако, протективная эффективность в условиях персистенции вируса ограничена. Анализ гуморального иммунитета выявил истощение IgG в группе детей с папилломатозом гортани с непрерывно-рецидивирующей формой, содержание IgM было достоверно снижено в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой. Анализ содержания IgA выявил наличие достоверного повышения IgA во всех группах детей, причем, выраженное повышение IgA отмечено в группе детей с часто-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. Следовательно, гуморальное звено иммунитета характеризовалось повышением сывороточных концентраций IgG и IgA в группе детей с папилломатозом гортани. Выявлено достоверное повышение CD38+ во всех группах детей с папилломатозом гортани, что свидетельствует о наличии активации как клеточных, так и гуморальных факторов воспаления. Наибольшая экспрессия CD95+ выявлена в группе детей с непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани, что свидетельствует о наличии глубокого Т-клеточного иммунодефицита и способствует прогрессированию заболевания. CD23+ также повышена во всех группах детей с папилломатозом гортани. Наибольшее повышение наблюдается в группе детей с часто-рецидивирующей формой, что доказывает наличие длительно персистирующей хронической вирусной инфекции. Следовательно, выявлены выраженные изменения в клеточном звене иммунитета, которые проявляются подавлением CD3+Т-лимфоцитов, CD4+Т-хелперов, ИРИ, повышением числа CD8+Т-лимфоцитов, CD16+клеток, и в гуморальном звене иммунитета – повышением сывороточных концентраций IgG и IgA. Изучение ЦИК показало, что самое высокое среднее значение мелких и крупных ЦИК было характерно для детей непрерывно-рецидивирующей формой папилломатоза гортани. При других клинических формах папилломатоза гортани наблюдается достоверное повышение ЦИК мелких и крупных. Выявлена активация гуморального звена иммунитета наряду с выраженной депрессией клеточного звена иммунитета. Таким образом, полученные данные подтверждают глубокий Т-клеточный иммунодефицит на фоне проактивации В-клеточного (гуморального) иммунного ответа, который не эффективен в борьбе с внутриклеточной вирусной инфекцией.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гаращенко Т.И. Исследование иммунологических показателей у детей с папилломатозом гортани и возможные пути иммунокоррекции // Вестн. оторинолар. — 1996. — № 4. — С. 15-18.
2. Дмитриев Г.А. Папилломавирусная инфекция // М.: Мед. книга, 2006. - 76 с.
3. Зайцев В.С. Клиническая и морфологическая характеристики папилломатоза гортани у детей // Архив патологии. 2005. - Т. 67, № 2. - С. 27-29.
4. Иванченко Г.Ф. Современные представления об этиологии, патогенезе, клинике, диагностике и лечении папилломатоза гортани // Вестн. оторинолар. 2000: - № 1. - С. 44-48.
5. Новиков Д.К., Выхристенко Л.Р. и др. Иммунология и аллергология для ЛОР-врачей // М.: Мед. информац. агентство, 2006. - 512 с.
6. Исаков В.А. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей // СПб.: СпецЛит, 2006. - 303 с.
7. Солдатский Ю.Л., Онуфриева Е.Л., Щепин Н.В. и др. Исходы ювенильного респираторного папилломатоза // Рос. оторинолар. 2004. - Т.11, № 4. - С.70-73.
8. Каримова Ф.С. Лечение папилломатоза гортани индукторами интерферона // Материалы по эффективности применения циклоферона в клинике ЛОР-болезней. СПб.: «Тактик-Студио», 2006. - С. 49-52.
9. Клеточная чувствительность к действию интерферона при иммунодефицитах, аутоиммунных и аллергических заболеваниях // Russian Journal of Immunology. 2000. - Vol. 5, № 2. - P. 185-192.
10. Плужников М.С., Катинас Е.Б, Рябова М.А. Клинико-иммунологическая характеристика рецидивирующего респираторного папилломатоза // Рос. оторинолар. 2006. - Т. 22, № 3. - С. 22-26.
11. Солдатский Ю.Л., Киселев В.И., Онуфриева Е.К. и др. Противорецидивная медикаментозная терапия рецидивирующего респираторного папилломатоза. // Пособ. для врачей. М., 2005. - 27 с.

12. Солдатский Ю.Л. Рецидивирующий респираторный папилломатоз // Вопросы современной педиатрии: науч.-практ. журнал Союза педиатров России. 2007. - Т. 6, № 1. - С. 69-74.
13. Солдатский Ю.Л. Заболевания гортани // Педиатр, фармакол.: науч.-практ. журнал Союза педиатров России. 2008. - Том 5; № 3. -С. 28-31.
14. Craig C., MD. Derkay. Craig S. Recurrent respiratory papillomatosis // Laryngoscope. 2001. - Vol. 111. - P. 57-69.
15. Goon P., Sonnex C., Jani P. et al. Recurrent respiratory papillomatosis: an overview of current thinking and treatment // Eur Arch Otorhinolaryngol. 2008.265(2).-P. 147-151.
16. Koutsky L.A., Ault K.A. Wheeler et al. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine // N. Engl. J. Med. 2002. - Vol. 347, № 21. - P. 1645-1651.
17. Craig S. Recurrent respiratory papillomatosis // Laryngoscope. 2001. - Vol. 111. - P. 57-69.
18. Duensibg S. Mechanism of genomic instability in human cancer: insight from studies with human papillomavirus oncoproteins // Int. J. Cancer. 2004.-Vol. 109, №2.-P. 157-162.
19. Tarkowski T.A., E.N. Koumans, A. Pierce et al. Epidemiology of human papillomavirus infection and; abnormal cytologic test result in an urban adolescent population // J. Infect. Dis. 2004. - Vol. 185, № 1. - P. 46-50.
20. Zawadska-Glos L, Jakubowska A, Chmielik M, Bielicka A, Brzewski M. Lower airway papillomatosis in children // Intern J Pediatr Otorhinolaryng. 2003;69:1117-1121

Босишга рухсат этилди: 22.05.2018.
Бичими: 60x84 1/8. «Times New Roman»
гарнитурда рақамли босма усулида босилди.
Шартли босма табағи 2,7. Адади:50. Буюртма: № 43
100060, Тошкент, Я. Фуломов кўчаси, 70.

«TOP IMAGE MEDIA»
босмаҳонасида чоп этилди.

