

*М.Б. САМБУР, Д.І. ЗАБОЛОТНИЙ, Т.Д. САВЧЕНКО, Т.А. ЗАЯЦ,
С.В. ТИМЧЕНКО, М.Д. ТИМЧЕНКО, Ю.В. КІКОТЬ, О.Л. КОСТЮЧЕНКО*

СТАН КЛІТИННОГО ТА ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ПАЦІЄНТІВ З ПЕРЕДРАКОВИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ГОРТАНІ

*ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка АМН України»
(дир. – академік НАМНУ, проф. Д.І. Заболотний)*

Рецидивуючі хронічні захворювання ЛОР-органів, обумовлені інфекційними агентами, найчастіше вірусної природи та мікст-інфекціями, подразненням слизової оболонки, спричиненим несприятливими техногенними та екологічними факторами, хронічним перенапруженням голосу та ін., що супроводжуються патологічними змінами слизової оболонки верхніх дихальних шляхів (ВДШ), характеризуються як передракові (ПЗ) і за певних умов здатні до трансформації в злоякісні стани. За даними літератури, найбільш поширеною та тяжкою патологією серед ПЗ ВДШ є папіломатоз гортані. Зокрема, частота малігнізації респіраторних папіломатозів, за даними різних авторів, складає 2-3 % [6, 8].

Зважаючи на те, що імунологічна реактивність організму відіграє важливу роль у формуванні протиінфекційного, протипухлинного та інших видів захисту і значною мірою впливає як на формування передракових захворювань ЛОР-органів, так і на їх клінічний перебіг та ефективність лікування, метою нашого дослідження стало визначення показників клітинного та гуморального імунітету у таких хворих.

Матеріал та методи дослідження

Дослідження стану системи імунітету були проведені у 20 пацієнтів з передраковими захворюваннями верхніх дихальних шляхів, серед яких було 10 хворих на хронічний гіперпластичний ларингіт (ХГЛ) та ще 10 – з хронічним рецидивуючим папіломатозом гортані (ХПГ). Отримані дані співставлялись з аналогічними показниками у практично здорових осіб контрольної групи (n=12).

Дослідження показників крові у хворих здійснювалось шляхом отримання сироватки крові та виділення мононуклеарних клітин в градієнті щільності фіколл-верографіна. Системна імунологічна реактивність оцінювалась за допомогою визначення кількості CD3+-клі-

тин крові з використанням моноклональних антитіл, функціональної активності Т-лімфоцитів в змішаній культурі за величиною індекса взаємодії лімфоцитів (ІВЛ) [4], рівня функціональної активності природних цитотоксичних клітин (ПЦК) [3], вмісту сироваткових імуноглобулінів класів М, G, А [7] та циркулюючих імунних комплексів (ЦК) [1], а також лейкоцитарного складу крові. Визначення загального вмісту лейкоцитів – у крові проводилось пробірочним методом з підрахунком лейкоцитарної формули під світловим мікроскопом на мазках, забарвлених за Паппенгеймом [5], з урахуванням кількості великих гранулоцитів (ВГЛ). Статистична обробка результатів досліджень виконувалась з використанням непараметричного критерію U Вілкоксона-Манна-Уїтні за допомогою пакету програм для статистичної обробки біометричних даних WinPEPI та методом кутового перетворення Фішера [2].

Результати досліджень

Серед клітинних реакцій реактивності у пацієнтів з ПЗ ВДШ як для перебігу, так і для прогнозу захворювання важливу роль відіграють показники Т-системи імунітету та функціональної активності природних цитотоксичних клітин.

Результати проведених досліджень, репрезентовані в табл. 1, показують, що у хворих на ПЗ обох груп кількісні показники Т-системи імунітету за середніми значеннями по групам практично не відрізняються від таких у осіб контрольної групи. Проте індивідуальний аналіз одержаних даних (табл. 1) свідчить про більш частий (на рівні тенденції, $P < 0,06$) кількісний дефіцит Т-лімфоцитів при ПГ. У більшості обстежених обох груп було відмічено пригнічення функціональної активності Т-клітин імунітету, що й визначило збільшення в них середньостатистичних значень ІВЛ порівняно з таким у практично здорових донорів.

Таблиця 1

| Показники Т-клітинного імунітету у хворих на ПЗ ВДШ | | | |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|
| Показники | Групи хворих | | |
| | ХЛГ | ПГ | Контроль |
| Т-лімфоцити, % | 54,5 (38,0-64,0) | 53,4 (34,0-72,0) | 53,7 (44,0-68,0) |
| Частота відносної Т-лімфоцитопенії, % | 10,0 | 40,0 P<0,06 | 0 |
| Т-лімфоцити, 10 ⁹ в 1 л | 1,03 (0,24-1,71) | 0,88 (0,46-1,460) | 1,06 (0,76-1,59) |
| Частота абсолютної Т-лімфоцитопенії, % | 20,0 | 40,0 | 0 |
| ІВЛ | 0,92* (0,57-1,07) | 0,72* (0,45-1,30) | 0,57* (0,37-0,75) |

Примітки:
 1) в дужках подані межі коливань;
 2) * – достовірність відмінностей (P<0,05) відносно контрольної групи.

Таблиця 2

| Рівні природної цитотоксичної активності мононуклеарних клітин крові у хворих на ПЗ | | |
|---|-----------|---|
| Група | Показники | Рівні природної цитотоксичної активності, % |
| 1. Контроль | СЗ | 22,7 |
| | МК | 10,8-32,8 |
| 2. Хворі на ХЛГ | СЗ | 10,3 |
| | МК | 0,0-31,0 |
| | P1-2 | <0,05 |
| 3. Пацієнти з ПГ | СЗ | 6,0 |
| | МК | 0,0-17,1 |
| | P1-3 | <0,01 |
| | P2-3 | >0,05 |

Примітки: 1) СЗ – середнє значення; 2) МК – межі коливань; 3) P – достовірність розбіжностей.

Таблиця 3

| Зміни відносних показників лейкоцитарного складу крові у хворих на ПЗ | | | |
|---|----------------------|---------------------|---------------------|
| Показник | Групи хворих | | Контроль (n=18) |
| | ХЛГ (n=10) | ПГ (n=10) | |
| | СЗ (МК) | СЗ (МК) | СЗ (МК) |
| Загальний вміст лейкоцитів, % | 4,84 (1,80-6,45) | 4,77 (2,50-7,00) | 5,20 (3,60-7,65) |
| Паличкоядерні нейтрофіли, % | 2,35 (0-5,50) | 3,85 (0,50-7,50) | 3,00 (1,00-5,50) |
| Нейтрофіли, % | 52,9 (40,00-71,50) | 56,25 (34,50-72,50) | 57,17 (46,50-66,00) |
| Еозинофіли, % | 2,30 (0-7,50) | 1,45* (0-3,50) | 2,31 (0-5,00) |
| Моноцити, % | 3,70 (1,00-6,00) | 4,70 (0,50-10,00) | 3,81 (1,00-7,00) |
| Лімфоцити, % | 38,75* (20,00-56,50) | 33,70 (17,00-55,50) | 33,36 (26,00-38,00) |
| Базофіли, % | 0 | 0 | 0,19 (0-1,00) |
| ВГЛ, % | 0,80 (0-3,50) | 0,25* (0-1,00) | 0,72 (0-2,00) |

1) СЗ – середнє значення; 2) МК – межі коливань; 3)* – достовірність розбіжностей відносно контролю (P<0,05)

Додавання *in vitro* до мононуклеарних клітин крові у хворих з відносною Т-лімфоцитопенією імуномодулюючих засобів, які сприяють диференціюванню Т-клітин, зокрема препарату з вилочкової залози-тималіну, призвело до збільшення вмісту цієї популяції лімфоцитів з 37,2% до 54,6%, тобто до нормаль-

ного рівня Т-лімфоцитів у периферичній крові пацієнтів, що підтверджує наявність у них дефіциту Т-системи імунітету і вказує на доцільність застосування імуномодулюючих засобів з метою корекції порушень імунного гомеостазу.

Визначення рівнів природної цитотоксичної активності мононуклеарних клітин крові

Таблиця 4

| Зміни абсолютних показників лейкоцитарного складу крові у хворих на ПЗ | | | |
|--|------------------|------------------|------------------|
| Показники | Групи хворих | | Контроль |
| | ХГЛ | ПГ | |
| | СЗ (МК) | СЗ (МК) | СЗ (МК) |
| Загальний вміст лейкоцитів, 10 ⁹ /л | 4,84 (1,80-6,45) | 4,77 (2,5-7,0) | 5,20 (3,60-7,65) |
| Паличкоядерні нейтрофіли, 10 ⁹ /л | 0,12 (0-0,26) | 0,20 (0,01-0,41) | 0,16 (0,04-0,27) |
| Нейтрофіли, 10 ⁹ /л | 2,54 (1,20-4,43) | 2,75 (0,93-4,86) | 2,98 (2,09-4,21) |
| Еозинофіли, 10 ⁹ /л | 0,11 (0-0,36) | 0,07* (0-0,23) | 0,12 (0-0,30) |
| Моноцити, 10 ⁹ /л | 0,18 (0,05-0,34) | 0,22 (0,03-0,42) | 0,19 (0,06-0,39) |
| Лімфоцити, 10 ⁹ /л | 1,89 (0,44-3,00) | 1,53 (0,88-2,78) | 1,74 (1,12-2,79) |
| Базофіли, 10 ⁹ /л | 0 | 0 | 0,01 (0-0,05) |
| ВГЛ, 10 ⁹ /л | 0,04 (0-0,17) | 0,01 (0-0,07) | 0,04 (0-0,13) |

Примітки:
1) СЗ – середнє значення; 2) МК – межі коливань; 3) * – достовірність розбіжностей відносно контролю (P<0,05)

Таблиця 5

| Показники ЦІК в сироватці крові хворих на ПЗ | | |
|--|------------------|--------------------------------|
| Групи | Показники | Кількість ЦІК, од. опт. щільн. |
| 1. Контроль | СЗ | 25,5 |
| | МК | 4,0-64,0 |
| 2. Хворі на ХГЛ | СЗ | 17,6 |
| | МК | 0,0-43,0 |
| | P ₁₋₂ | P>0,05 |
| 3. Пацієнти з ПГ | СЗ | 49,8 |
| | МК | 14,0-99,0 |
| | P ₁₋₃ | P<0,05 |
| | P ₂₋₃ | P<0,05 |

Примітки: 1) СЗ – середнє значення; 2) МК – межі коливань; 3) P – достовірність розбіжностей.

у обстежуваних (табл. 2) показало, що у середньому показники їх функціональної активності достовірно знижені в обох дослідних групах. Проведене в умовах *in vitro* дослідження чутливості клітин крові до дії імуномодуляторів виявило, що стимуляції такими препаратами, зокрема тіотріазоліном та дибазолом, частіше піддаються клітини у хворих на ХГЛ, а саме у 70% випадків, тоді як при папіломатозі гортані – тільки у 30% випадків, що вказує на те, що за умов пригнічення активності природних цитотоксичних клітин в обох обстежених групах більш виражена та стійка супресія функціональної активності ПЦК спостерігається у осіб з ПГ.

Вивчення лейкоцитарного складу крові у обстежуваних включало визначення кількості великих грануловміщуючих лімфоцитів (ВГЛ), які, за сучасними поглядами, є морфологічним субстратом натуральних клітин-кілерів.

Особливістю лейкограми у хворих на ХГЛ можна вважати достовірно збільшення відносного вмісту лімфоцитів (табл. 3).

Як видно з даних, наведених в таблицях 3 та 4, суттєвим для пацієнтів на ПГ є також достовірно зменшення кількості ВГЛ, що вказує на дефіцит клітин з противірусною та проти-пухлинною активністю у цього контингенту обстежуваних. Крім того у осіб з ПГ суттєво меншою, ніж у групі контролю, є як абсолютна, так і відносна кількість еозинофілів, що разом з відсутністю в крові базофільних гранулоцитів може свідчити про більш виражені стресові реакції організму у цих хворих.

Стан гуморальних механізмів захисту пацієнтів з ПЗ оцінювався за допомогою визначення вмісту сироваткових імуноглобулінів різних класів та циркулюючих імунних комплексів.

Аналіз показників циркулюючих імунних комплексів показав, що у хворих на ХГЛ вони не відрізняються від таких у осіб контрольної групи, тоді як у пацієнтів з ПГ рівень ЦІК достовірно збільшений (табл. 5).

Аналіз вмісту сироваткових імуноглобулінів різних класів свідчить про те, що в обох обстежуваних групах при порівнянні з даними

Таблиця 6

| Кількість сироваткових імуноглобулінів у хворих на ПЗ | | | | |
|---|--|-----------------------------|-----------|----------|
| Групи обстежених | Показники | Вміст імуноглобулінів (г/л) | | |
| | | IgM | IgG | IgA |
| 1. Здорові донори | СЗ | 1,11 | 12,01 | 1,77 |
| | МК | 0,5-1,4 | 10,5-15,0 | 1,0-2,4 |
| 2. Хворі на ХГЗЗ | СЗ | 1,29 | 12,03 | 2,23 |
| | МК | 0,67-2,2 | 9,6-13,8 | 0,3-3,7 |
| 3. Пацієнти з ПГ | СЗ | 1,34 | 12,83 | 2,38* |
| | МК | 0,67-2,4 | 9,1-15,5 | 1,05-3,7 |
| Примітки: | 1) СЗ – середні значення; 2) МК – межі коливань; 3) * – достовірність розбіжностей (pU) порівняно з контролем P<0,05. | | | |

у здорових донорів визначається тенденція до підвищення вмісту сироваткового IgA (більше 2,4г/л у 40% пацієнтів обох груп), що набуває статистичної достовірності для осіб з ПГ ($P_{1,3} < 0,05$). Крім того, за рахунок збільшення у частини обстежуваних кожної групи вмісту IgM до 2,0-2,4г/л спостерігається також тенденція до гіперімуноглобулінемії класу М (табл. 6).

Вміст сироваткового Ig G у обстежених пацієнтів знаходиться в межах фізіологічної норми.

Одержані результати досліджень вказують на те, що у хворих на ПЗ ВДШ визначаються суттєві порушення низки показників природженого та набутого імунітету, які проявляються пригніченням функціональної активності Т-лімфоцитів і природних цитотоксичних клітин, гіперімуноглобулінемією класу А, більше вираженими у осіб з папіломатозом.

Крім того у пацієнтів з цим видом патології відмічається кількісний дефіцит ВГЛ, Т-лімфоцитів, еозинофілів та суттєве збільшення рівня сироваткових ЦІК.

Значна частота виявлення у обстежених з ПЗ ВДШ кількісного та/або функціонального дефіциту Т-системи імунітету, пригнічення активності ПЦК на тлі дефіциту ВГЛ, високого рівня ЦІК, що вказують на дисбаланс анти- та пробластомних чинників системи імунітету, можуть служити підставою до включення визначення цих показників імунного гомеостазу до клініко-лабораторного алгоритму обстеження таких пацієнтів на етапах діагностики, лікування та прогнозування подальшого перебігу передракових захворювань. Крім того, визначені порушення імунного статусу хворих на ПЗ обґрунтовують доцільність використання імуномодуючих засобів в складі комплексної їх терапії.

1. Белозеров Е.С., Макарова Т.А. Преципитационный метод исследования иммунных комплексов у больных вирусным гепатитом В // Лаб. дело. – 1982. – № 12. – С. 741-743.
2. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 296 с.
3. Мельников О.Ф., Заяц Т.А. Сравнение радиоизотопного и спектрофотометрического метода определения цитотоксичности клеток // Лаб. диагностика. – 1998. – № 1. – С. 43-45.
4. Самбур М.Б. Способ оценки взаимодействия лимфоцитов *in vitro*, основанный на определении их розеткообразующей способности // Иммунология. – 1991. – № 2. – С. 30-33.
5. Справочник по клиническим функциональным исследованиям / Под ред. А. Гиттера и Л. Хейльмейера. – М.: Медицина, 1966. – 612 с.
6. Gailis B., Hayden R.E. Recurrent papillomatosis: progression to invading and malignancy // Amer. L. Otolaryngol. – 1991. – Vol. 12, N2. – P. 104-112.
7. Jerne N., Nordin A. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells // Science. – 1963. – v. 140. – 3565. – P. 405.
8. Steinberg V.M. et al. A possible role of human papillomavirus in head and neck cancer // Cancer Metastasis Rev. – 1996. – Vol. 15, N 1. – P. 91-112.

Надійшла до редакції 13.05.11.

© М.Б. Самбур, Д.І. Заболотний, Т.Д. Савченко, Т.А. Заяц, С.В. Тимченко, М.Д. Тимченко, Ю.В. Кікоть, О.Л. Костюченко, 2011

**СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО
ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ
С ПРЕДРАКОВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ
ГОРТАНИ**

*Самбур М.Б., Заболотный Д.И., Савченко Т.Д.,
Заяц Т.А., Тимченко С.В., Тимченко М.Д., Кикоть Ю.В.,
Костюченко А.Л. (Киев)*

Резюме

Исследования состояния системы иммунитета у больных хроническим гипертрофическим ларингитом и папилломатозом гортани выявили угнетение у них функциональной активности Т-лимфоцитов и естественных цитотоксических клеток, гипериммуноглобулинемию класса А, в большей степени выраженные у пациентов с папилломатозом. Кроме того, у последних определяются дефицит БГЛ и эозинофилов в периферической крови и увеличение уровня ЦИК.

**CELLULAR AND HUMORAL
IMMUNE STATE IN PATIENTS WITH
PRECANCER DISEASES
OF LARYNX**

*Sambur M.B., Zabolotny D.I., Savchenko T.D.,
Zayats T.A., Timchenko S.V., Timchenko M.D.,
Kikot Yu.V., Kostyuchenko A.L. (Kyiv)*

S u m m a r y

Investigations of immune status in patients with chronic hypertrophic laryngitis and laryngeal papillomatosis revealed the depression of T-lymphocytes and NK-cells functional activity and increase of serum IgA contents, deeply expressed in patients with papillomatosis. In addition to it the deficiency of blood LGL, eosinophiles and the significantly increase of circulating immune complexes level have been determined in patients of last group.