

УДК :616.22:61.321-08

ЗНАЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЛАРИНГИТА У ЛИЦ С ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ (ВПГ 1/2 ТИП)

Гарюк Г.И., Куликова Е.А., Зуефир Самир

Харьковская медицинская академия
последипломного образования

Воспалительные заболевания верхних дыхательных путей (ВДП) занимают ведущее место среди ЛОР-заболеваний [1,2], а в последние годы установлена тенденция к росту их частоты (по данным разных авторов, от 2.4 до 10.4% на амбулаторном ЛОР-приеме) [3,4]. Большое значение имеет и воспалительная патология гортани, которая приводит к нарушению ее функции, в частности, дыхательной и голосообразовательной. Стойкие клинические проявления нарушения функции гортани (дыхательной - стенозы гортани различной стадии и голосообразовательной - афонии и дисфония) обусловлены многофакторностью процессов, влияющих на функции органа и приводят к переходу в хроническую форму - хронический ларингит (ХЛ). Особенно неблагоприятной формой является хронический гиперпластический ларингит, что расценивается клиницистами как предраковое заболевание [5,6].

Доказано, что ХЛ возникает только у иммуносупрессированных лиц, поэтому определение наиболее информативных показателей иммунного статуса у этих больных актуально. Среди этиологических факторов, приводящих к обострению ХЛ, все больший удельный вес в последние годы приобретают не только респираторные, но и герпесвирусы, значение которых в формировании иммуносупрессии общеизвестно [7,8,9].

В последние годы изучение нарушений иммунитета невозможно без определения факторов межклеточной кооперации иммунной системы, в частности "цитокиновой сети". Интерлейкины (цитокины) - это протенины, производимые активированными клетками иммунной системы, не имеющие специфичности в отношении антигенов и являющиеся медиаторами межклеточной коммуникации при иммунном ответе, гемопоэза, воспаления, а также в межклеточных взаимосвязях. Достижения современной иммунологии доказали, что дисрегуляция цитокиновой системы является неотъемлемой составной частью всех аутоиммунных и воспалительных процессов. Интерлейкины осуществляют плейотропный биологические эффекты на различные виды клеток, главным образом, участвуя в формировании и регулировании защитных сил организма [10,11,12].

Целью исследования является совершенствование способа диагностики степени

тяжести обострения ХЛ у лиц с персистирующей герпесвирусной инфекцией (ГВИ), в частности, вируса простого герпеса 1/2 типа (ВПГ 1/2 типа), что дает возможность дифференцированного назначения терапии разным группам больных с обострением ХЛ.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находилось 189 больных с обострением ХЛ в возрасте от 25 до 58 лет, находившихся в 2009-2012 г.г. на стационарном и амбулаторном лечении в ГКБ № 30 г. Харькова (клиническая база ЛОР-кафедры ХМАПО).

ЛОР-диагноз обследованных больных устанавливался на основании классического ЛОР-осмотра с включением ларингостробоскопии, бактериологического, цитологического исследования мазков из наиболее пораженных участков гортани. Всем больным сделаны клинические анализы крови и мочи. Контрольную группу ставили 20 здоровых лиц в возрасте от 29 до 49 лет (не имевших хронических заболеваний и рецидивирующей герпесвирусной инфекции в анамнезе). Диагноз персистирующей герпесвирусной инфекции устанавливали иммуноферментным исследованием крови с использованием тест-систем НПК «Диапроф-Мед» «DIA-HSV 1/2 Ig M» и «DIA-HSV 1/2 Ig G» к специфическим антигерпесвирусным IgM и IgG. Тестирование производили с помощью прибора для проведения ферментного анализа Fax 303 + (Anvarmess Technology inc., USA) на базе ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова АМН Украины».

Всем больным и лицам контрольной группы методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем «Вектор-Бест» Новосибирск, «ProCob» Санкт-Петербург в сыворотке крови определяли уровень провоспалительных интерлейкинов: γ -ИФН, фактора некроза опухолей (ФНО- α), ИЛ-1, ИЛ-6 и противовоспалительного ИЛ-4. Тестирование осуществляли на спектрофотометре: определяли количественные показатели оптической плотности (ОП) на волне 492 нм и 450 нм с учетом показателей контрольных образцов (положительного и отрицательного). Определение проводили в ЦНИЛ ХМАПО.

Нормальными уровнями исследуемых показателей считали полученные у здоровых лиц величины в пределах 5-95% центилей. Средний уровень γ -ИФН в контрольной группе составил 10.15 ± 2.07 пг/мл (2.22-11.12 пг/мл), ФНО- α 7.74 ± 2.7 пг/мл (1.1-9.95 пг/мл), ИЛ-1 297.3 ± 24.5 пг/мл (40.91-631.82 пг/мл), ИЛ-4 91.09 ± 24.4 пг/мл (3.6-224 пг/мл), ИЛ-6 7.86 ± 2.7 пг/мл (1.76-10.68 пг/мл). Обработку первичного материала осуществляли с использованием универсальных статистических пакетов для персонального компьютера Statistika 6.0 for Windows xp, Excel 2003. Для оценки межгрупповых отличий в табл.2 использовали параметрический t-критерий Стьюдента, а в табл.1 для анализа сравнения признаков, которые были выражены в процентах, применяли непараметрические методы статистики, в частности,

вычисляли критерий Пирсона χ^2 . Достоверными считали отличия при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований маркеров ГВИ в крови наблюдаемых больных (специфические

антигерпесвирусные IgM и IgG) приведены в Таблице 1. При выявлении в крови антигерпесвирусного IgM к ВПГ ½ типа устанавливали обострение ГВИ, выявление IgG к ВПГ ½ типа - как инфицирование в анамнезе.

Таблица 1. – Выявление маркеров ГВИ в крови больных хроническим ларингитом

Диагноз обследованных больных	Количество обследованных больных и здоровых лиц	Положительные результаты ИФА к ВПГ ½ типа		Отрицательные результаты
		IgM	IgG	IgG
Больные с обострением ХЛ	189	41 (21,6)*	125 (66.2 %)	23(12,2%)*
Здоровые лица (контрольная группа)	20	0	13 (65 %)	7 (35%)

Различие в группах достоверно, определено по критерию Пирсона χ^2 . Расчет проверен с помощью StatGraphics. * $p < 0.05$

Все больные были разделены на группы в соответствии с выявленными маркерами к специфическим антигерпесвирусным IgM и IgG. При этом больных с обострением ГВИ (41 человек - положительные результаты ИФА к IgM ВПГ ½ типа) в соответствии с клинической картиной мы разделили на 2 группы: I-A – с тяжелыми клиническими проявлениями ХЛ (острая боль в горле, яркая воспаленная слизистая гортани с обилием мокроты, определяемая при непрямой ларингоскопии, у 5 из них при поступлении установлен стеноз гортани 1-й стадии и I-B – с длительным вялотекущим течением ХЛ, большинство из которых уже лечились

амбулаторно, и направлены в стационар в связи с неэффективностью лечения.

В последние годы появились новые данные об участии цитокин-опосредованных механизмов в формировании иммунной недостаточности при инфекции. В связи с чем мы определили характеристику спонтанной индукции ряда цитокинов крови у обследованных больных: провоспалительных интерлейкинов: γ -ИФН, фактора некроза опухолей (ФНО- α), ИЛ -1, ИЛ-6 и противовоспалительного ИЛ-4. Содержание уровней цитокинов (интерлейкинов) в исследуемых группах больных и у здоровых (контрольная группа) представлено в Таблице 2.

Таблица 2. – Содержание уровней интерлейкинов в сыворотке крови больных исследуемых групп и в здоровых лиц

Больные хроническим ларингитом	γ -ИФН пг/мл	ИЛ-1 пг/мл	ИЛ-4 пг/мл	ИЛ-6 пг/мл	ФНО- α пг/мл
С персистенцией ГВИ (обострение) n=20 I-A	25.7 \pm 1.8*,**	705.1 \pm 58.9*,**	146.4 \pm 13.8*,**	29.5 \pm 0.8*	23.6 \pm 1.8*
С персистенцией ГВИ (обострение) n=2 I-B	3.6 \pm 0.5*	356.7 \pm 0.3	10.4 \pm 3.7	35.2 \pm 0.3*	1.6 \pm 0.1*
Без обострения ГВИ n=125	23.2 \pm 0.9*,**	685.7 \pm 86.2*,**	145.7 \pm 13.7**	24.7 \pm 1.9*	8.7 \pm 1.2
Без персистенции ГВИ (отрицательный результат на иммуноглобулины к ВПГ ½ тип) n=23	7.2 \pm 0.7	289.8 \pm 13.9	8.8* \pm 0.7	26.5 \pm 2.4*	12.7 \pm 0.3
Здоровые лица n=20	10.2 \pm 2.1	297.3 \pm 24.5	91.1 \pm 4.4	7.9 \pm 0.8	7.7 \pm 0.7

* - достоверность отличий в сравнении с группой здоровых лиц ($p < 0.05$)

** - достоверность отличий в каждой из подгрупп между лицами с персистенцией ГВИ или без нее ($p < 0.05$)

Нетипичное течение ХЛ (более тяжелый или часто рецидивирующий характер ХЛ) имел место именно у больных с установленной персистенцией ГВИ. У больных ХЛ с активацией персистирующей ВПГ ½ типа инфекцией имели место 2 типа

реагирования цитокинов сыворотки крови: 1-я группа (I-A), в которой у больных имело место достоверное повышение всех исследуемых интерлейкинов, так называемый «цитокиновый взрыв», что свидетельствует о тяжелом характере течения

воспалительного процесса и требует интенсивной противовоспалительной и дезинтоксикационной терапии с последующим контролем показателей; 2-я (I-B) с дисбалансом цитокинового профиля: снижение уровня γ -ИФН и ФНО- α на фоне повышения ИЛ-1 и ИЛ-6. Это позволило выбрать эти показатели как критерии для оценки тяжести обострения хронического ларингита у больных с персистенцией ГВИ или без нее.

Если уровень цитокинов не превышает уровень этих показателей у здоровых лиц, заболевание не имеет тенденции к генерализации и больные нуждаются в стандартной схеме лечения ларингита.

Если имеет место повышение всех вышеупомянутых интерлейкинов, реакция иммунной системы гиперергическая и требует включения в комплекс лечения парентерального введения кортикостероидов для предотвращения возникновения осложнений.

Повторно обследованные больные были осмотрены через 1 год после первичного обследования и лечения. По результатам клинических наблюдений и инструментального ларингоскопического исследования они были разделены на две группы: одну из которых составили больные с безрецидивным течением – 122 человека, а другую – 67 человек, у которых были определены рецидив заболевания (ХЛ) через 6-11 мес. после лечения.

Среди 67 больных с рецидивом ХЛ были 31 больной (75.6%), имевших обострение персистирующей ГВИ при первичном исследовании, и 36 человек (24.4%) больные ХЛ без персистенции ГВИ.

Особо тяжелое течение заболевания имеет место у больных с персистирующей герпесвирусной инфекцией (ГВИ) ВПГ $\frac{1}{2}$ типа, у которых установлен высокий уровень ИЛ-6 в 2 и более раз на фоне пониженного уровня γ -ИФН и ФНО: это неблагоприятная ситуация, способствующая частому рецидивированию процесса или формированию гиперпластической формы ХЛ. В этом случае лечение требует 2-х этапного лечения:

1-м этапом - у больных с персистирующей герпесвирусной инфекцией (ГВИ) ВПГ $\frac{1}{2}$ типа назначают этиотропное лечение (ацикловир по стандартным схемам, заместительная терапия препаратами интерферона (например, виферон 1 500 000 ЕД в ректальных суппозиториях 2 раза в день - 5 дней),

2-м этапом - иммуномодуляторов регулирующего воздействия (например, интерфероген циклоферон 2.0 м 1 раз в день через день - 10 дней) с последующим контролем показателей. У больных с рецидивирующим ХЛ мы также используем отечественный иммуномодулятора Эрбисол, вводимого местно через кожу шеи в переднадгортанниковый пространство 1 мл 1 раз в день № 10. Этот метод лечения, по нашим наблюдениям, наиболее перспективный [13].

Выводы

1. У 21.6% больных хроническим ларингитом, по данным клинико-вирусологического обследования, был выявлен рецидив острой ВПГ-инфекции (по положительным результатам ИФА на выявление специфических IgM к ВПГ $\frac{1}{2}$ типов).

2. Нами выявлены различия в цитокиновом профиле у больных ХЛ с активацией персистенции ВПГ $\frac{1}{2}$ типа и без неё. У больных ХЛ без персистенции ВПГ $\frac{1}{2}$ типа, с нашей точки зрения, имеется более сбалансированный профиль цитокинов с закономерными физиологическими реакциями на инфекционное воспаление: повышение уровня γ -ИФН, ФНО- α и ИЛ-1 и противовоспалительного ИЛ-4 либо отсутствие различий с показателями здоровых лиц, что свидетельствует, по данным литературы, об ограниченном характере воспаления, не склонного к генерализации.

3. У больных ХЛ с активацией персистирующей ВПГ $\frac{1}{2}$ типа инфекцией имели место 2 типа реагирования цитокинов сыворотки крови: 1-я группа (I-A), в которой у больных имело место повышение всех исследуемых интерлейкинов, так называемый «цитокиновый взрыв», что свидетельствует о тяжелом характере течения воспалительного процесса и требует интенсивной противовоспалительной и дезинтоксикационной терапии с последующим контролем показателей; 2-я (I-B) с дисбалансом цитокинового профиля: снижение уровня γ -ИФН и ФНО- α на фоне повышения ИЛ-1 и ИЛ-6.

4. Определение цитокинового спектра медиаторов межклеточного взаимодействия имеет прогностическое значение: выявление у конкретного больного ХЛ с персистенцией ВПГ $\frac{1}{2}$ типа превышения уровня ИЛ-6 в 2 и более раз на фоне снижения уровня γ -ИФН и ФНО- α является прогностически неблагоприятной ситуацией, предрасполагающей к частому рецидиву воспаления в гортани (по данным катамнеза). Такой характер цитокинового профиля требует 2-х ступенчатой коррекции: 1-м этапом должна быть проведена противовоспалительная терапия с учетом характера этиологического фактора, 2-м – коррекция нарушений в иммунной системе.

REFERENCES

1. Hanzaliev, R.B. The principles of clinical examination of chronic pathology in otolaryngology / R.B.Hanzaliev // Materials of X- convention of otolaryngologists of Ukraine. it is Kyiv: the Press of Ukraine, 2005. - С.477-478
2. Kovalenko, S.N. Problems diagnosing chronic hyperplastic laryngitis / S.N. Kovalenko, A.S. Lapchenko, D.L. Muratov // Journal of Otorhinolaryngology. - 2006. - № 4. - P.34-37.
3. Bezshapchny, S.B. Suchasny pidhid to likuvannya i profilaktiki GOSTR i hronichnih laringitiv have osib voice profesiy / S.B. Bezshapchny, B.A. Kutsenko, A.V. Bilonog // Materiali XI z'zdu otorinolaringologiv Ukrainy. - Pike: TOV "Vistka", 2010. - P.23.
4. Alexander Zhuravlev. Modern aspects of the pathogenesis and diagnosis of hyperplastic processes of

the mucosa of the upper respiratory tract / A.S. Zhuravlev, N.O. Shushlyapina, M.I. Yashchenko, L.P. Kotsyura // Materiali XI z'izdu otorinolaringologiv Ukrainy. - Pike: TOV "Vistka", 2010. - P.80.

5. Khrustaleva, E.V. Comparative analysis of the immune status of laryngeal cancer and chronic hyperplastic laryngitis / E.V.Hrustaleva // Journal of Otorhinolaryngology. - 2005. - № 2. - P.25-27.

6. Sambur, M.B. Dinamika zmin immunogo statusu ailmentu, z peredrakovimi zahvoryuvannyami verhnih dihalnih shlyahiv pislya complex likuvannya / MB Samburu, D.I. Zabolotny, T.D. Savchenko // Journal vushnih, nasal i Gorlovo hvorob. - 2012. - № 4. - S. 9-13.

7. Malkin, J-E. The continuing spread of HSVinfection. Worldwide epidemiology / J-E. Malkin // Herpes. - 2005. - 12:3. - p.77

8. Isakov, V.A. Human herpes virus infection. / V.A. Isakov, E. Arkhipova, D.V. Isakov // St. Petersburg SpetsLit, 2006. - 302 p.

9. Corey, L. Asymptomatic shedding of HSV – 2 from the oropharyns / L. Corey // Herpes. – 2006. – № 13. – suppl. 2. – p.50.

10. Ketlinskaya, S.A. Cytokines / S.A. Ketlinskaya, A.S. Simbirtsev. - St. : LLC "Publishing Tome", 2008. - 552s.

11. Gayduchok, I.G. Comparative characteristics of production of anti-inflammatory cytokines and immunophenotype of blood lymphocytes in surgical sepsis / IG Gayduchok, A.A. Volkov, M.V. Kuchma, V.V. Nomerovchenko etc. // Materials of XV of convention of microbiologists of Ukraine- Kharkiv, 2011. - P.211.

12. Bakumenko, AV Vivchennya rivnya prozapalnih tsitokiniv IL that IL-1-6 sirovatsi krovi have ailments for abscesses that legeniv empiemu pleura / A.V. Bakumenko // Materials of XV of convention of microbiologists of Ukraine.. - Kharkiv, 2011. - P.210.

13. Garyuk, G.I. Mistseve vikoristannya imunomodulyatora erbisol in complex likuvanni hronichnogo laringitu in ailing s persistentsieyu herpesvirusnoyi infektsii (virus Person of herpes simplex) / G.I. Garyuk, O.O. Kulikova, S.O. Samusenko, N.A. Golovko, Zwitter Samir // Problems bezpererвної medichnoyi osviti i science. - 2012. - № 4. - P.34-38.

УДК :616.22:61.321-08

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ
ИНТЕРЛЕЙКИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ В
ОПРЕДЕЛЕНИИ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ
ХРОНИЧЕСКОГО ЛАРИНГИТА У ЛИЦ С
ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ
ИНФЕКЦИЕЙ (ВПГ ½ ТИП)**

Гарюк Г.И., Куликова Е.А., Зюетир Самир

Обследовано 189 больных с обострением хронического ларингита (ХЛ), находившихся в 2009-2012 г.г. на стационарном лечении в ГКБ № 30 г. Харьков: изучены ряд интерлейкинов и маркеры герпесвирусной инфекции (специфические IgM и IgG к ВПГ ½ типов) сыворотки крови. У 21.6% больных хроническим ларингитом, по данным клинико-

вирусологического обследования, был выявлен рецидив острой ВПГ-инфекции. Сравнительное изучение цитокинового профиля больных обостренным хроническим ларингитом показало более сбалансированный профиль цитокинов у лиц ХЛ без персистенции ВПГ (1/2 тип) и гиперергический характер цитокинового профиля «цитокиновый взрыв» у лиц с ХЛ и рецидивом острой ВПГ-инфекции (1/2 тип). Особого внимания, по мнению авторов, требуют лица с повышенным уровнем ИЛ-6 на фоне сниженных показателей γ -интерферона (γ -ИФН) и фактора некроза опухолей (ФНО- α), что является предрасполагающим фактором перехода воспалительного процесса в гортани в хроническую часто рецидивирующую форму (по данным катамнеза). Выявленные отклонения реагирования факторов межклеточной иммунной кооперации требуют прицельной коррекции.

Ключевые слова: цитокины, хронический ларингит, персистенция ВПГ ½ типа.

УДК :616.22:61.321-08

**ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ
ДЕЯКИХ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ СІРОВАТКИ КРОВІ
В ВИЗНАЧЕННІ ТЯЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ
ХРОНІЧНОГО ЛАРИНГІТУ У ОСІБ З
ПЕРСИСТУЮЧОЮ ГЕРПЕСВІРУСНОЮ
ІНФЕКЦІЄЮ (ВПГ ½ ТИП)**

Гарюк Г.І., Кулікова О.О., Зюетир Самір

Обстежено 189 хворих з загостренням хронічного ларингиту (ХЛ), у 2009-2012 р., що перебували на стаціонарному лікуванні у МКЛ № 30 м. Харкова: досліджені деякі інтерлейкіни і маркери герпесвірусної інфекції (специфічні IgM і IgG к ВПГ ½ типів) сироватки крові. У 21.6% хворих ХЛ був встановлений рецидив гострої ВПГ-інфекції. Порівняльне вивчення цитокинового профілю хворих на загострення ХЛ показало більш збалансований профіль цитокинів у осіб на ХЛ без персистенції ВПГ (1/2 типів) і гіперергічний характер цитокинового профілю «цитокиновий вибух» у осіб з ХЛ і персистенцією ВПГ (1/2 типів). Особливої уваги, на думку авторів, потребують хворі з підвищеним рівнем ІЛ-6 на тлі знижених показників γ -інтерферону (γ -ІФН) і фактору некрозу пухлин (ФНП- α), що є передуючим фактором переходу запального процесу у гортані у хронічну часто рецидивуючу форму (за даними катамнезу). Встановлені відхилення реагування факторів міжклітинної імунної кооперації потребують доцільної корекції.

Ключові слова: цитокини, хронічний ларингіт, персистенція ВПГ ½ типів.

UDC:616.22:61.321-08

**CYTOKINES AND C-REACTIVE PROTEIN
CONTENT IN SERUM BLOOD OF PATIENTS
WITH CHRONIC LARYNGITIS DISEASE**

Garyuk G. I., Kulikova E.A., Zaiter Samir

Some kinds of interleukines of patients with chronic laryngitis disease were investigated. There is "cytokines

explosion” of the patients with chronic laryngitis with persistent herpes simplex virus. Comparative investigation cytokine profile in serum blood is demonstrated: balanced reaction cytokines profile of patients with chronic laryngitis without persistent herpes simplex virus and dysbalanced reaction of patients with laryngitis

(hyperergation). Increased content IL-6 and low content γ -interferon and tumor necrosis factor (TNF- α) are predisposition of chronisation inflammation processes in larynges. This situation needs sighting correction.

Key words: herpes simplex virus, cytokines, chronic laryngitis disease.