

**ДАЯНОВ**  
**Айрат Назирович**

**АДАПТАЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ  
МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГОРТАНИ  
В НОРМЕ И ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛАРИНГИТЕ**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

14.01.03 – болезни уха, горла и носа

Автореферат  
диссертации на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития России; Государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова».

Научные руководители:

доктор медицинских наук  
Азнабаева Лилия Фаритовна;

доктор медицинских наук, профессор  
Арефьева Нина Алексеевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор  
Ганцева Халида Ханафеевна

доктор медицинских наук, профессор  
Забиров Рамиль Ахметович

Ведущая организация: ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России»

Защита состоится 15 марта 2012 года в «\_\_\_» часов на заседании Объединённого диссертационного совета ДМ 208.006.05 при Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения и социального развития России» по адресу: 450000, г. Уфа, ул. Ленина,3.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения и социального развития России» по адресу: 450000, г. Уфа, ул. Ленина,3.

Автореферат разослан «\_\_\_» февраля 2012 года.

Учёный секретарь  
диссертационного совета

Лукманова К. А.

## **Общая характеристика работы**

### **Актуальность темы**

Хронический ларингит (ХЛ) характеризуется длительностью течения, частыми рецидивами, нарушением голосообразования. Актуальность исследования обусловлена высокой значимостью для лиц голосо-речевых профессий.

Рассматриваются различные факторы формирования ХЛ. Уделяется внимание сопутствующей патологии эндокринной (Окороков А.Н., 2003), пищеварительной (Кокорина В.Э., 2006) и других систем, роли иммунных факторов и влиянию экологически неблагоприятной среды (Бичурина Т.А., 2008). Имеются единичные сообщения о роли вирусной и хламидийной инфекции в развитии воспалительных процессов верхних дыхательных путей, их влиянии на иммунную систему (Иванченко Г.Ф., 2003).

В защите слизистой оболочки верхних дыхательных путей большую роль играет местный иммунитет. Имеющиеся исследования, посвящённые особенностям местного иммунитета слизистой оболочки гортани и ротоглотки при хроническом гиперпластическом ларингите крайне малочисленны.

Остаётся малоизученным вопрос адаптации иммунной системы слизистой оболочки гортани в норме и при различных формах ХЛ и весьма актуальным является необходимость поиска новых методов лечения, включающих иммунокоррекцию.

### **Цель исследования**

Определение адаптационных механизмов иммунной защиты у практически здоровых лиц и больных хроническим ларингитом на местном (слизистая оболочка гортани) и системном уровнях, в том числе в условиях инфицированности герпесвирусами с целью повышения эффективности лечения больных хроническим ларингитом.

### **Задачи исследования**

1. Определить особенности иммунной защиты слизистой оболочки гортани у практически здоровых лиц в сравнении с данными других участков верхних дыхательных путей (ротовая и носовая полости) на основе исследования цитограмм, уровня иммуноглобулинов, показателей их секреции (ОКС).
2. Изучить адаптационные механизмы местного иммунитета слизистой оболочки гортани у практически здоровых лиц и особенности иммунного реагирования на местном и системном уровнях при различных формах хронического ларингита.

3. Оценить этиологические факторы хронического ларингита на основе проведения бактериологических и ДНК-исследований (вирус простого герпеса, вирус Эпштейна-Барр, цитомегаловирус, Chl. trachomatis, Chl. pneumoniae) и определить влияние на клинико-иммунологические особенности заболевания.

4. Обосновать применение иммуноглобулинов для внутривенного введения (Иммуновенин) при лечении больных хроническим ларингитом.

Ggh – o

### **Научная новизна**

Впервые проведено комплексное изучение особенностей местного иммунитета слизистой оболочки гортани у практически здоровых лиц и у больных различными формами хронического ларингита. Определены особенности иммунного реагирования у практически здоровых лиц на слизистой оболочке гортани по сравнению с ротовой и носовой полостью в виде повышенной продукции IgE, сниженной – sIgA и мобилизации IgG из кровеносного русла. Выделены три варианта иммунного реагирования у практически здоровых лиц: норма, адаптация (повышение продукции sIgA, IgE и активация фагоцитов) и дезадаптация (угнетение фагоцитарного звена). При хроническом воспалении слизистой оболочки гортани выявлена гиперэргическая реактивность на местном и недостаточность Т-клеточного и фагоцитарного звеньев иммунитета на системном уровнях.

Установлены клинико-иммунологические особенности у больных хроническим ларингитом с персистенцией вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) в слизистой оболочке гортани в виде гиперплазии слизистой и частого рецидивирования на фоне комбинированной недостаточности иммунного реагирования на системном уровне. Обоснован и разработан способ терапии хронического ларингита иммуноглобулинами для внутривенного введения (патент Российской Федерации на изобретение № 2297847, 2007г.).

### **Практическая значимость работы**

Определены особенности иммунного ответа на слизистой оболочке гортани у практически здоровых лиц и больных хроническим ларингитом путём формирования гиперэргической реактивности (повышенная продукция IgE).

Получены новые данные патогенеза при ХЛ в виде снижения показателей Т-клеточного и фагоцитарного звеньев на системном уровне, более выраженные при ВЭБ-инфицированности слизистой оболочки гортани (комбинирован-

ная недостаточность) и гиперэргической реактивности на местном уровне (увеличение уровня IgE, рекрутация антител из кровеносного русла).

Показана роль герпесвирусной инфекции (вирусов Эпштейна-Барр) в патогенезе ХЛ, ассоциации её с кокковой флорой (стафилококки, стрептококки) и влияние на клинические проявления заболевания (увеличение сроков лечения, частое рецидивирование). Обоснована возможность коррекции иммунных нарушений заместительной терапией иммуноглобулинами для внутривенного введения.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Материалы исследования используются в работе оториноларингологического отделения и ЛОР-кабинета поликлиники ГБУЗ «РКБ им. Г. Г. Куватова», на циклах повышения квалификации врачей Института последипломного образования, в обучении студентов, при подготовке врачей-интернов, клинических ординаторов и аспирантов ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России. Материалы диссертации вошли в методические рекомендации: «Ларингит» (Уфа, 2001), «Дисфонии» (Уфа, 2002), «Герпесвирусная инфекция при заболеваниях ЛОР-органов» (Уфа, 2007), «Адаптационные механизмы местного иммунитета слизистых оболочек гортани» (Уфа, 2010). Получен патент Российской Федерации на изобретение №2297847 (2007).

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Местный иммунитет слизистой оболочки гортани у практически здоровых лиц имеет особенности по сравнению с другими участками верхних дыхательных путей (носовая и ротовая полости) в виде низкой доли секреторных форм IgA, повышенной продукцией IgE и рекрутацией IgG из кровеносного русла. Адаптационные механизмы у практически здоровых лиц характеризуются активацией фагоцитарного звена (нейтрофилы) и антительной защиты (sIgA и IgE); при хроническом воспалении – путём гиперпродукции IgE и рекрутации IgG из кровеносного русла.

2. Иммунное реагирование при обострении хронического ларингита на системном уровне характеризуется изменением в Т-клеточном (низкий уровень CD8<sup>+</sup> лимфоцитов) и фагоцитарном звеньях иммунной системы. Инфицированность слизистой оболочки гортани вирусом Эпштейна-Барр (64,2%) сопровождается комбинированной недостаточностью иммунного реагирования и клини-

чески проявляется гиперплазией слизистой оболочки гортани и более частым рецидивированием (в 2 раза).

3. Иммуноглобулины для внутривенного введения при однократном введении в дозе 25 мл повышают эффективность лечения больных хроническим ларингитом, способствуют нормализации функции фагоцитов на местном и системном уровнях, быстрому восстановлению голосовой функции и сокращению рецидивов (в 3 раза).

### **Апробация работы**

Материалы исследования доложены на международном симпозиуме по фониатрии (Москва, 1997); Всероссийской научной конференции с международным участием «Медицинские иммунобиологические препараты в XXI веке» (Уфа, 2005); на XVII съезде оториноларингологов РФ (Нижний Новгород, 2006); Всероссийской научной конференции «Прикладная и фундаментальная наука – российской оториноларингологии» (СанктПетербург, 2010); IV научно-практической конференции оториноларингологов центрального федерального округа Российской Федерации. «Актуальное в оториноларингологии» (Москва, 2011); на заседании ассоциации оториноларингологов РБ (Уфа, 2010); на расширенном заседании кафедр оториноларингологии, клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «БГМУ Минздравсоцразвития России» (Уфа, 2011); на заседании объединённого диссертационного совета ДМ 208.006.05 при ГБОУ ВПО «БГМУ Минздравсоцразвития России» (Уфа, 09.02.2012).

### **Публикации**

Материалы диссертации опубликованы в 13 научных работах, из них 3 – в рецензируемых научных журналах, рекомендованных в перечне ВАК Министерства образования и науки РФ, новизна исследования подтверждена патентом РФ на изобретение (патент Российской Федерации на изобретение №2297847, 2007г.).

### **Объём и структура диссертации**

Диссертация изложена на 145 страницах, содержит 34 таблицы и 30 рисунков. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Список литературы включает 171 источника (118 отечественных и 53 зарубежных).

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Под наблюдением находились 54 практически здоровых лица (ПЗЛ), которые в течение 3 месяцев не имели острых или обострения хронических воспалительных заболеваний, и 110 больных различными формами хронического ларингита (ХЛ), проходивших лечение в ЛОР – отделении ГБУЗ «Республиканская клиническая больница» им. Г.Г. Куватова (гл. врач к.м.н. Нагаев Р.Я.). Из них катаральная форма ХЛ (КХЛ) была у 27 (24,54%), гиперпластическая (ГХЛ) – у 58 (52,72%) и атрофическая (АХЛ) – у 25 человек (22,72%). Распределение по полу: в группе ПЗЛ мужчин – 32(59%), женщин – 22(41%), в группе с ХЛ мужчин – 68(61,8%), женщин – 42(38,2%). Средний возраст ПЗЛ составил  $47,2 \pm 0,81$  лет; среди больных при КХЛ –  $32,03 (\pm 1,14)$ , ГХЛ –  $45,98 (\pm 0,44)$  и при АХЛ –  $57,8 (\pm 0,91)$  лет. Критериями исключения явились больные с гнойно-воспалительной патологией носа и уха и/или с острыми или хроническими системными заболеваниями (в т.ч. онкологические, аутоиммунные). У всех проводили сбор анамнеза, общий осмотр, клиническое, эндоскопическое, функциональное и клинико-иммунологическое обследование.

Ларингологическое обследование включало наружный осмотр и пальпацию гортани, непрямую ларингоскопию. Проводилась слуховая оценка голоса по методике Isshiki N.(1967). Инструментальные методы исследования: ларингостробоскопия (ЭЛС-3, производства СССР), видеоларингостробоскопия (видеоларингостробоскоп фирмы Карл Шторц, ФРГ).

Дизайн исследований представлен в таблице 1.

Таблица 1 - Дизайн исследований

| Исследования                         | Практически здоровые лица | Больные хроническим ларингитом |
|--------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| - клинические наблюдения, n          | 54                        | 110                            |
| - иммунограмма, n                    | 54                        | 58                             |
| - местный иммунитет, n               | 30                        | 110                            |
| - бактериологические исследования, n | 30                        | 51                             |
| - ПЦР – диагностика, n               | 30                        | 45                             |
| - лечение Иммуновенином, n           | -                         | 31                             |
| -традиционное лечение, n             | -                         | 65                             |
| - отдалённые результаты (анкеты), n  | -                         | 50                             |

Лабораторные исследования включали иммунологические, цитологические, бактериологические и молекулярно-биологические методы (ПЦР-диагностика).

Исследованию подвергались кровь, секрет с поверхности голосовых складок, мазки и соскобы с поверхности слизистой оболочки гортани (СОГ) в области голосовых складок. Кровь из локтевой вены брали утром натощак; секрет СОГ собирали эндоларингеально с поверхности голосовых и вестибулярных складок под местной анестезией 10% раствором лидокаина (спрей) (Костюкова С.Б., 1995) при непрямой ларингоскопии ватным тупфером (массой 1 мг), смоченным изотоническим 0,9% раствором NaCl, помещали в эппендорферскую пробирку с 0,5 мл физиологического раствора, центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 минут и работали с надсадочной жидкостью; параллельно делали мазок на предметное стекло для цитологических исследований (иммуноцитограмма).

Иммуноцитологические исследования включали в себя изучение количественных (цитоз, представительство иммунокомпетентных клеток, эпителиальных клеток, бактерий) и функциональных (степень деструкции клеток и способность нейтрофилов к фагоцитозу) показателей. Среди фагоцитирующих клеток учитывали долю деструктированных, в цитоплазме которых сохранились целые микроорганизмы [Кильсенбаева Ф. А. и др., 2003] и рассчитывали показатель незавершённого фагоцитоза по формуле:  $Nd/(Nc+Nd) \times 100$ , где Nd – число деструктированных фагоцитов; Nc – число целых фагоцитов; 100 – пересчёт в проценты. Изучение деструктивных процессов в клетках осуществляли по методу Л.А. Матвеевой (1986).

В ларингеальных смывах проводили количественное определение иммуноглобулинов классов E, A, sIgA, G, M (ЗАО «Вектор-Бест», Новосиб. обл.) и активности внеклеточных пероксидаз [Азнабаева Л.Ф. и др., 2002].

В венозной крови определяли популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови и маркеры их активации в реакции непрямой иммунофлюоресценции CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+ и HLA-DR+ с использованием моноклональных антител, имеющих флюоресцентные метки (НИИЭМ, НКП «Препарат», Н. Новгород и ТОО «Гематолог», Москва).

Поглотительную активность нейтрофилов крови определяли по способности клеток поглощать частицы латекса (процентное содержание фагоцитирующих клеток и среднее содержание частиц латекса в одном фагоците)



(Меньшиков В.В., 1987). Кислородзависимый метаболизм нейтрофилов определяли в тесте восстановления нитросинего тетразолия (НСТ–тест) («Реаккомплекс», Чита).

В сыворотке крови определяли уровень иммуноглобулинов классов G, A, M методом радиальной иммунодиффузии в геле (НИИ им. Гамалеи, Москва); комплементарной активности по 50% гемолизу эритроцитов барана в единицах СН50 (Меньшиков В.В., 1987); циркулирующих иммунных комплексов методом осаждения 4% раствором полиэтиленгликоля m.m.6000 (Гудина Р.В., 1988, модификация кафедры иммунологии РМАПО, Москва, 1999) и уровней альбумина в сыворотке крови и смывах с СОГ бромкрезоловым методом (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибир. обл.). Проводился расчёт показателей относительной секреции антител (ОКС) СОГ (Тотолян А. А., 1999). Иммунологические исследования проводились двукратно – до лечения и непосредственно после лечения (на 12-е сутки). Комплекс иммунологических исследований выполнен на базе иммунологической лаборатории ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г. Г. Куватова».

Бактериологические исследования мазков с поверхности СОГ проводились на базе бактериологического центра ГБУЗ «РКБ им. Г.Г.Куватова» с использованием готовых планшетов (НПО Н. Новгорода (ПБДЭ и ПБДС) пробирочным способом с применением систем индикаторных бумажных.

В соскобах, взятых с СОГ, проводили выявление ДНК (методом полимеразной цепной реакции) хламидий и герпесвирусов. Были использованы комплект реагентов для ПЦР с электрофоретической схемой детекции НПФ «Литех»; «ЦИТОПОЛ» – набор реагентов для обнаружения цитомегаловирусов, «ГЕРПОЛ I+II» – для вирусов простого герпеса I и II типов, «ЭБАРПОЛ» – для вирусов Эпштейна-Барр, «ПОЛИНИК-ХЛАМ» – для хламидий. Исследования проводились на базе ПЦР-лаборатории Республиканского перинатального центра.

В зависимости от способа лечения больных разделили на 2 группы. В первой группе (n=65) проводилась традиционная терапия (Василенко Ю.С., 2002), включающая местное медикаментозное воздействие гидрокортизоном (Suspensio Hydrocortisoni 25%) путём вливания в гортань 0,5-1,0 мл суспензии с помощью горланного шприца и физиотерапевтическое лечение: синусоидальные модулированные токи при частоте модуляции 50-100 гц, глубине 50-100%, длительность посылок и пауз в периоде 1-2 сек., сила тока 1-2мА (до появления

ощущения вибрации), продолжительность процедуры 10 минут, ежедневно, на курс 10 процедур. Во второй группе (n=31), наряду с традиционной терапией, включая местное воздействие глюкокортикостероидов, однократно вводили иммуноглобулины человека для внутривенного введения (ВВИГ) – препарат «Иммуновенин» (ФГУП НПО «Микроген», Уфа) – 25,0 мл препарата вводилось внутривенно капельно со скоростью 10-20 кап/мин. (патент на изобретение №2297847, 2007г.).

Статистическую обработку проводили путём вычисления средней арифметической величины (M), стандартной ошибки показателя средней (m), критерия хи – квадрат ( $\chi^2$ ) для таблицы сопряжённости 2x2 и достигнутого уровня значимости (с поправкой Иэйтса на непрерывность). При сравнении данных двух групп рассчитывали коэффициент Стьюдента. Производилась оценка статистики связи – отношения шансов (odds ratio, OR) и границ 95%-ных доверительных интервалов для них. Статистически значимыми различиями принимались данные при достоверности  $p < 0,05$ . Для изучения взаимосвязи признаков применён корреляционный анализ с определением коэффициента парной линейной корреляции (Пирсона).

#### Результаты собственных исследований и их обсуждение.

Результаты клинической оценки больных ХЛ показали, что большую часть пациентов (53%) составили больные гиперпластической формой. Наибольшее количество больных ХЛ соответствовало возрастной группе от 31 до 60 лет, атрофическая и гиперпластическая формы чаще выявлялись в возрасте 41-50 лет, т.е. в трудоспособном возрасте – соответственно 44,8% (26 из 58) и 60% (15 из 25) (рисунок 1).

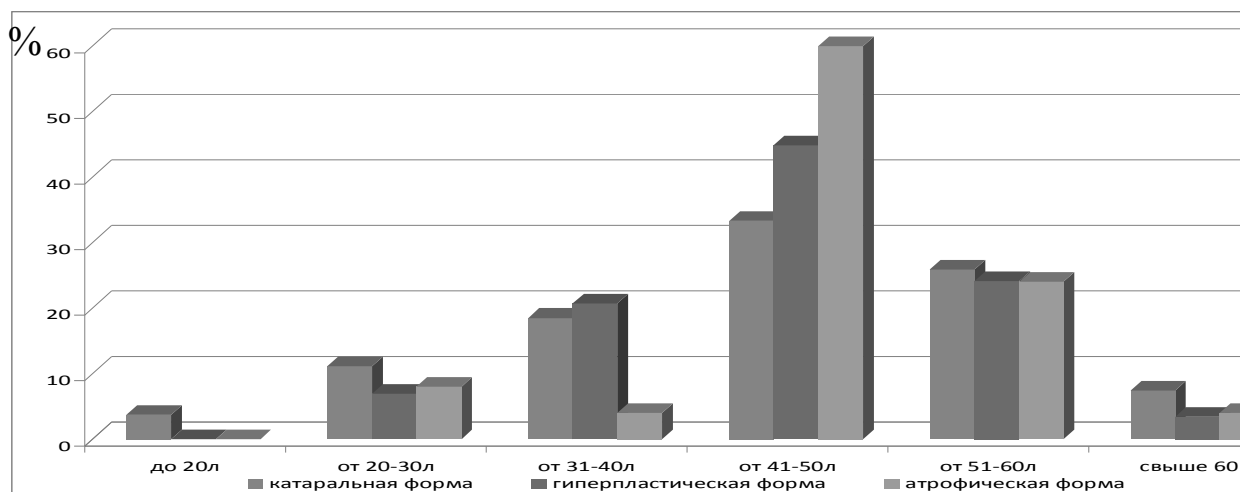


Рисунок 1 - Распределение больных хроническим ларингитом по форме заболевания в зависимости от возраста (%)

Среди больных отмечалось преобладание лиц мужского пола, особенно в группах с выраженными изменениями эпителия СОГ (АХЛ – 64% и ГХЛ – 64%). В качестве причин заболевания больными чаще всего указывались различные факторы: инфекции (50%), голосовые нагрузки (50%) или их сочетание. При АХЛ на передний план выходило воздействие внешних факторов (острые респираторные вирусные инфекции) – 75% (19 из 25).

На день обращения в стационар клинические проявления ХЛ характеризовались признаками обострения воспаления СОГ и нарушением её функций, жалобами на выраженный дискомфорт в горле, кашель, осиплость. Соотношение различной степени выраженности голосовых нарушений при различных формах ХЛ отражено на рисунке 2.

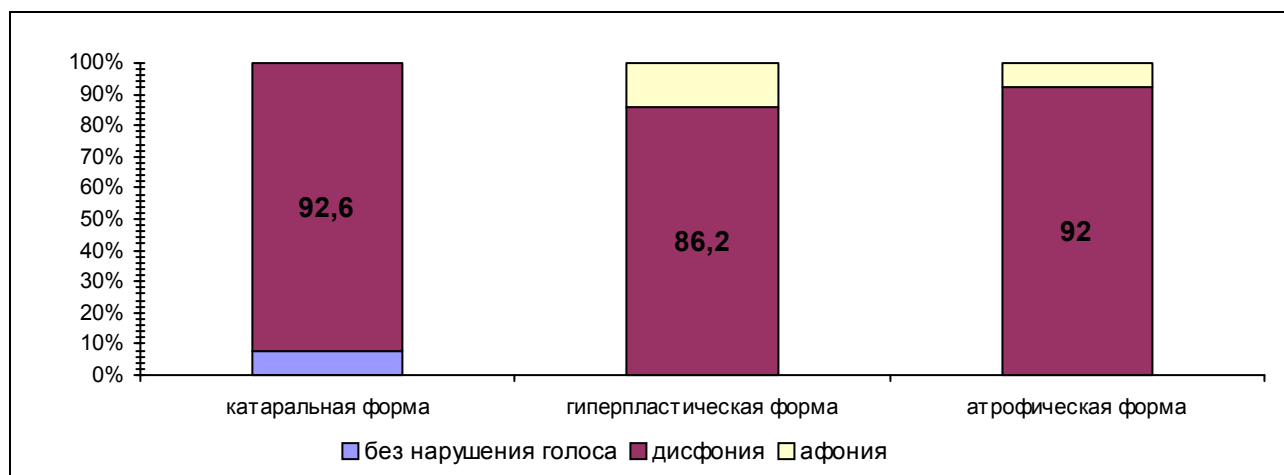


Рисунок 2 - Нарушения голоса при различных формах хронического ларингита (%)

Оценка голосовой функции проводилась по методу Isshiki (1967) и показала, что наиболее выраженные изменения голоса наблюдались у больных ХЛ при гиперпластической (ГХЛ) и атрофической (АХЛ) формах заболевания в виде афоний (13,8% и 8% соответственно, по сравнению с 0% при катаральной форме).

По данным ларингостробоскопии и видеоларингостробоскопии фонаторные колебания голосовых складок определялись в большинстве случаев (72-90%). Однако, в 10-28% случаев голосовые складки выглядели малоподвижными, отмечалось снижение амплитуды колебаний, уменьшение слизистой волны при КХЛ и ГХЛ до полного отсутствия в большинстве случаев с АХЛ. При всех формах заболевания в половине случаев движения голосовых складок имели

неравномерный характер по частоте и по амплитуде. Наибольшие нарушения голосовой функции (по данным слуховой оценки голоса) и показателей вибраторного цикла отмечались при выраженных изменениях СОГ (АХЛ и ГХЛ).

Бактериологические исследования показали, что у 51% (26 из 51) больных ХЛ на СОГ присутствовала условно-патогенная бактериальная флора. Наиболее часто высевались кокки (*Staphylococcus albus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus anhaemolyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus haemolyticus*) – 73% (19 из 26) больных и грибы рода *Candida* – 27% (7 из 26). Кокковая флора в основном была представлена стафилококками – 53% (10 из 19), в том числе *St. aureus* – 32% (6 из 19) и стрептококками – 21% (4 из 19) больных. В группе ПЗЛ выявленные микроорганизмы в абсолютном большинстве были представлены *Neisseria sicca* – 73% (22 из 30), тогда как *Staphylococcus aureus* в 3,3% случаев (1 из 30).

ПЦР – диагностика показала, что у 64,4 % (29 из 45) больных ХЛ имело место выявление вируса Эпштейна-Барр, по сравнению с 6,6% в группе ПЗЛ (2 из 30;  $\chi^2=22,46$ ;  $p=0,005$ ), что сопоставимо с данными Иванченко Г.Ф. (2003). В то же время вирус простого герпеса был выявлен только у 3 больных, а цитомегаловирусы и хламидии не были обнаружены.

Сопоставление данных бактериологических исследований и ДНК-диагностики показали, что у абсолютного большинства – 86% (44 из 51) больных ХЛ было выявлено контаминирование СОГ микроорганизмами (вирус Эпштейна-Барр, кокки, грибы). Определены особенности микробного представительства в зависимости от инфицированности вирусом Эпштейна-Барр – кокковая флора (стафилококки, стрептококки) отмечалась преимущественно в сочетании с вирусом Эпштейна-Барр (рисунок 3).

Оценка клинических особенностей в зависимости от инфицированности ВЭБ показала негативное влияние вирусов на частоту рецидивов заболевания при отсутствии значимых отличий в клинике. В группе больных ХЛ, инфицированных ВЭБ, рецидивирование в течение 1 года отмечалось чаще – у 86% (25 из 29) по сравнению с 43,8% (9 из 16;  $\chi^2=3,52$  при  $p=0,061$ ).

Следовательно, у больных с хронической патологией гортани в качестве этиологически значимого возбудителя можно признать вирусы Эпштейна-Барр (64,4%), в том числе в виде вирусно-бактериальных ассоциаций (30%) и реже в виде вирусно-микотических (4%). Клиническими особенностями инфициро-

ванностью вирусом Эпштейна-Барр является более частое (в 2 раза) рецидивирование.

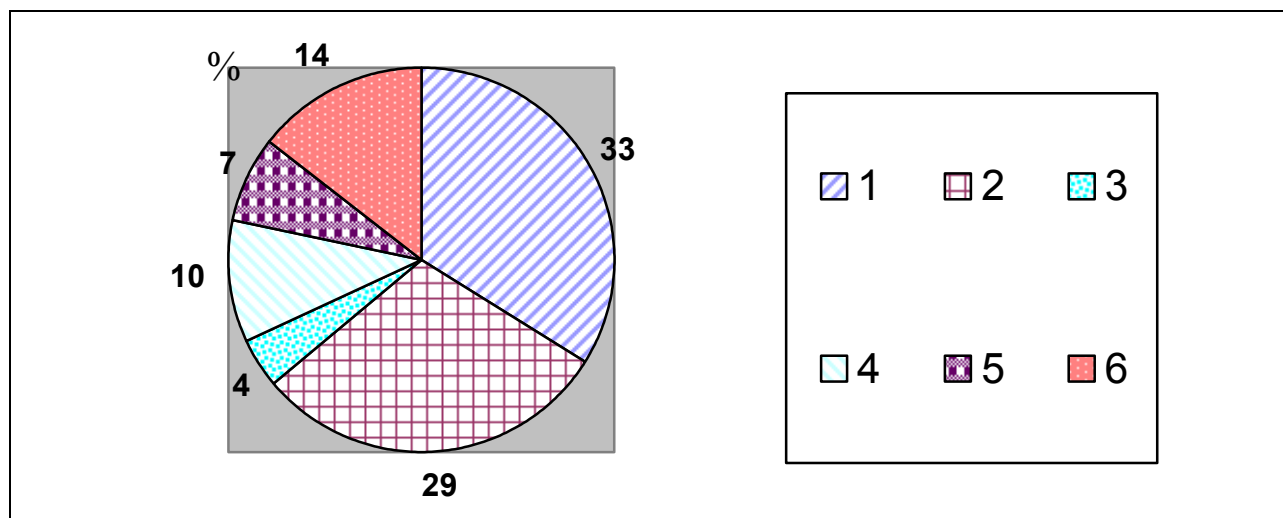


Рисунок 3 - Ассоциации инфекционных агентов на слизистой оболочке гортани у больных хроническим ларингитом (%)

Примечание:

1. вирус Эпштейна-Барр
2. вирус Эпштейна-Барр в ассоциации с кокковой флорой
3. вирус Эпштейна-Барр в ассоциации с грибами рода *Candida*
4. кокки (*Staphylococcus albus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus anhaemolyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus haemolyticus*)
5. не обнаружено.

Известно, что персистенция герпесвирусов является маркером иммунодефицитного состояния (Нестерова И.В., 1998) и сдерживание их активации обеспечивается факторами иммунной системы, в том числе и на местном уровне. В этой связи проводили определение особенностей местного иммунитета (клеточных и гуморальных факторов) на слизистой оболочке гортани (СОГ) в норме и при хронических воспалительных процессах (ХЛ).

У практически здоровых лиц в цитограмме СОГ отмечалось превалирование эпителиальных клеток плоского эпителия над лейкоцитами (эпителиальный тип). Доля клеток плоского эпителия составляла около 75%, преимущественно без признаков деструкции (0 класс) или слабой степени деструкции (1 – 2 класс). Сегментоядерные нейтрофилы были представлены в незначительном

количестве (14%), из которых 21% составляли фагоцитирующие клетки. Однако в  $62,12 \pm 3,14\%$  фагоциты были деструктурированы и бактерии находились в окружающей клетку «белковой сети», так называемый незавершённый фагоцитоз.

В смывах с СОГ содержались антитела: IgA, составившие около 70 % (секреторный IgA, и IgA без секреторного компонента были представлены почти в равных количествах), в меньшем количестве – IgG (26,23%) и в незначительном количестве – IgM и IgE (2,28 и 0,006 % соответственно). Уровень антител sIgA, IgE и IgA обеспечивался преимущественно за счёт местного синтеза (ОКС  $>1,0$ ), а IgG и IgM – путём выпотевания из кровеносного русла (ОКС  $<1,0$ ).

Сравнительная оценка показателей местного иммунитета СОГ ПЗЛ с данными на других участках верхних дыхательных путей выявила, что на слизистой оболочке носа и ротовой полости иммуноглобулины представлены преимущественно антителами с секреторным компонентом – sIgA (более 75%), тогда как в гортани – антителами без секреторного компонента – IgA и IgG (54%), доля секреторного иммуноглобулина А – sIgA составляла 42% ( $p < 0,05$ ). Показатели секреции иммуноглобулинов (ОКС) свидетельствовали о значительном увеличении продукции IgE (ОКС =  $16,64 \pm 7,63$ ) на СОГ по сравнению с данными ротовой полости –  $0,19 \pm 0,08$  ( $p < 0,05$  при  $t = 2,16$ ) и носа  $0,14 \pm 0,07$  ( $p < 0,05$  при  $t = 2,16$ ). Одновременно отмечалось снижение показателей секреции (ОКС) sIgA СОГ –  $10,65 \pm 3,36$  по сравнению с данными со слизистой оболочки ротовой полости  $51,44 \pm 5,67$  ( $p < 0,001$  при  $t = 6,2$ ) и носа  $35,71 \pm 10,01$  ( $p < 0,05$  при  $t = 2,37$ ).

С помощью корреляционного анализа у ПЗЛ было выделено три варианта иммунного реагирования на СОГ. Первый вариант характеризовался взаимодействием двух факторов: секреторного иммуноглобулина А и внеклеточной пероксидазной активности ВПА ( $r = 0,73$ ), которое отмечалось у 40%. Вторым вариантом (адаптация, 47%) – активацией фагоцитарных свойств нейтрофилов и внеклеточной пероксидазной активности с одновременным увеличением уровня секреторного иммуноглобулина А и иммуноглобулина Е. Третьим вариантом (дезадаптация, 13%) – нарушением завершённости фагоцитоза нейтрофилов, которое сопровождалось снижением факторов защиты, а именно уровня внеклеточной пероксидазы ( $r = -0,59$ ), IgE ( $r = -0,82$ ) и опосредованно sIgA ( $r = -0,79$ ).

Таким образом, иммунное реагирование СОГ у практически здоровых лиц характеризуется наличием взаимодействия факторов гуморального (sIgA и

IgE) и клеточного (нейтрофилы и ВПА) иммунитета. Отмечена готовность СОГ реагировать на воздействие факторов окружающей среды путём образования IgE, что обуславливает особенности реакции СОГ при воспалении – быстрый отёк, склонность к развитию гиперплазии.

Анализ показателей местного иммунитета СОГ при хроническом воспалении выявил выраженные деструктивные изменения клеток плоского эпителия и снижение количества нейтрофилов, особенно при гиперпластическом и атрофическом вариантах заболевания. Неповреждённые эпителиальные клетки выявлялись значительно меньше – при КХЛ показатель составил  $52,88 \pm 5,50\%$  ( $p < 0,001$ ), при ГХЛ –  $58,8 \pm 3,44\%$  ( $p < 0,001$ ), при АХЛ –  $58,00 \pm 8,55$  ( $p < 0,05$ ) по сравнению с  $78,11 \pm 3,79\%$  в группе ПЗЛ. Доля неповреждённых нейтрофилов при КХЛ составила  $14,54 \pm 2,40\%$  ( $p < 0,05$ ), при ГХЛ –  $9,25 \pm 3,31\%$  ( $p < 0,01$ ) по сравнению с данными ПЗЛ –  $22,16 \pm 4,12\%$ . В то же время, отмечалось увеличение фагоцитарной активности нейтрофилов до  $34,8 \pm 6,85\%$  ( $p < 0,05$ ) при КХЛ и до  $38,0 \pm 8,29\%$  ( $p < 0,05$ ) при ГХЛ, по сравнению с  $20,87 \pm 5,51\%$  в группе ПЗЛ. При атрофическом варианте показатели функциональной активности нейтрофилов практически не изменялись.

У больных хроническим ларингитом была выявлена выраженная активация гуморальных факторов защиты на СОГ (таблица 2).

Таблица 2 - Гуморальное звено иммунной системы слизистой оболочки гортани больных хроническим ларингитом

| Показатели   | Исследуемые группы               |                              |                          |                     |
|--------------|----------------------------------|------------------------------|--------------------------|---------------------|
|              | Практически здоровые лица (n=30) | Формы хронического ларингита |                          |                     |
|              |                                  | Катаральная (n= 27)          | Гиперпластическая (n=58) | Атрофическая (n=25) |
| sIgA, мкг/мл | $15,95 \pm 3,08$                 | $17,81 \pm 2,98$             | $27,06 \pm 4,05$ *       | $36,27 \pm 10,1$    |
| IgA, мкг/мл  | $10,09 \pm 1,47$                 | $37,59 \pm 3,25$ ***         | $33,16 \pm 2,78$ ***     | $18,62 \pm 4,52$    |
| IgG, мкг/мл  | $10,45 \pm 3,29$                 | $62,54 \pm 5,58$ ***         | $56,6 \pm 5,37$ ***      | $38,62 \pm 10,5$ *  |
| IgM, мкг/мл  | $0,91 \pm 0,15$                  | $4,11 \pm 1,07$ ***          | $2,19 \pm 0,33$ **       | $2,07 \pm 0,87$     |
| IgE, нг/мл   | $2,43 \pm 1,11$                  | $29,09 \pm 9,14$ ***         | $18,04 \pm 3,56$ ***     | $13,36 \pm 3,62$ ** |
| ВПА, у.е.    | $110,23 \pm 11,57$               | $417,6 \pm 113,15$ *         | $733,5 \pm 253,77$ *     | $234,66 \pm 48,3$ * |

Примечание – Различие с данными практически здоровых лиц статистически значимо: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

Отмечались повышенные уровни реагиновых антител (IgE) в десятки раз и в 3-5 раз – иммуноглобулинов без секреторного компонента (рекрутируемых из кровеносного русла) – классов G, A и M и незначительное увеличение секреторных антител (sIgA). При АХЛ, несмотря на отсутствие признаков выраженной антительной активации, спектр иммуноглобулинов характеризовался увеличенным содержанием IgE (в 5 раз) и IgG (в 2 раза).

Оценка показателей иммунной защиты у больных ХЛ на системном уровне (данные иммунограмм) выявила общность и особенности в зависимости от формы заболевания (таблица 3).

Таблица 3 - Иммунное реагирование на системном уровне у больных с различными формами хронического ларингита (данные иммунограмм)

| Показатели                  | Исследуемые группы               |                                       |                                |                           |
|-----------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------|
|                             | Практически здоровые лица (n=54) | Больные хроническим ларингитом (n=58) |                                |                           |
|                             |                                  | Катаральная форма (n=18)              | Гиперпластическая форма (n=20) | Атрофическая форма (n=20) |
| Фагоцитарное звено          | N                                | ↓                                     | ↓                              | ↓                         |
| Комплемент                  | N                                | N                                     | ↓                              | N                         |
| Т-клеточное звено           | N                                | N                                     | ↓↓                             | ↓↓                        |
| В-клеточное звено           | N                                | N                                     | N                              | ↓                         |
| CD16 <sup>+</sup> лимфоциты | N                                | N                                     | N                              | ↓                         |

#### Примечания

1. N–показатели соответствуют группе практически здоровых лиц.
2. ↑(↑↑) – показатели статистически достоверно увеличены по сравнению с группой практически здоровых лиц.
3. ↓(↓↓) – показатели статистически достоверно снижены по сравнению с группой практически здоровых лиц.
4. ↓ – изменён 1 параметр.
5. ↓↓ – изменены 2, и более параметра.

Общим для всех больных явилось недостаточность фагоцитарного звена. Однако, если при КХЛ отмечалась лишь тенденция к снижению фагоцитарной активности нейтрофилов (фагоцитоз  $51,76 \pm 3,11\%$ , в группе ПЗЛ  $57,98 \pm 3,06\%$ ),



то при выраженных изменениях СОГ (ГХЛ и АХЛ) установлена статистически значимая фагоцитарная недостаточность (соответственно  $47,83 \pm 2,86\%$  и  $50,27 \pm 3,60\%$ , в группе ПЗЛ  $57,98 \pm 3,06\%$ ,  $p < 0,05$ ) и снижение метаболической активности нейтрофилов – индекс миелопероксидазной активности составил  $1,39 \pm 0,14$  при ГХЛ и  $1,49 \pm 0,17$  при АХЛ, против данных ПЗЛ –  $2,10 \pm 0,21$  (соответственно  $p < 0,05$  и  $p < 0,05$ ).

Было установлено усугубление иммунной недостаточности у больных с выраженными изменениями СОГ в виде снижения Т-лимфоцитов с цитотоксическими свойствами ( $CD8^+$ ) (при ГХЛ – до  $20,9 \pm 1,65\%$ , при АХЛ – до  $19,7 \pm 1,72\%$ , в группе ПЗЛ –  $28,15 \pm 1,52\%$ , соответственно  $p < 0,01$  и  $p < 0,01$ ); снижения комплементарной активности у больных с ГХЛ (до  $54,92 \pm 4,96$  у.е. по сравнению с  $70,34 \pm 1,87$  у.е. в группе ПЗЛ,  $p < 0,01$ ); недостаточности В-клеточного звена (снижение  $CD22^+$  до  $0,15 \pm 0,01 \cdot 10^9/\text{л}$  по сравнению с  $0,24 \pm 0,02 \cdot 10^9/\text{л}$  в группе ПЗЛ,  $p < 0,001$ ) и НК-клеток ( $CD16^+$  до  $8,60 \pm 0,84\%$  по сравнению с  $12,11 \pm 1,19\%$  в группе ПЗЛ,  $p < 0,05$ ) при АХЛ.

Полученные результаты свидетельствуют о снижении противoinфекционной защиты на системном уровне у больных ХЛ, что сопровождалось выраженными изменениями СОГ (ГХЛ и АХЛ). Наличие выраженной недостаточности основного фактора противовирусной защиты –  $CD8^+$  является предрасполагающим фактором длительной персистенции вирусов и объясняет возможность реактивации герпесвирусов (в т. ч. ВЭБ) и их участия в воспалительном процессе.

Изучение показателей местного иммунитета СОГ больных ХЛ в зависимости от инфицированности ВЭБ не выявило значимых отличий. Однако, отмечались более высокие показатели иммуноглобулина Е ( $23,17 \pm 1,22$  нг/мл по сравнению с ПЗЛ –  $2,43 \pm 1,11$ ,  $p < 0,001$ ; в группе ВЭБ неинфицированных  $18,04 \pm 4,14$ ) и внеклеточной пероксидазной активности ( $809,02 \pm 325,63$  у.е. по сравнению с ПЗЛ –  $110,23 \pm 11,57$  у.е.,  $p < 0,05$ ; в группе ВЭБ неинфицированных  $457,12 \pm 216,31$  у.е.), что свидетельствует о выраженном гиперергическом иммунном реагировании СОГ в ответ на инфицированность ВЭБ.

Оценка показателей формирования иммунного ответа на системном уровне (иммунограммы) у больных ГХЛ в зависимости от персистенции ВЭБ на СОГ показала особенности – у ВЭБ инфицированных отмечалась комбинированная иммунная недостаточность – наряду с угнетением Т-клеточного звена,

отмечалось снижение антительной защиты и элиминационных возможностей (фагоцитарное звено).

Так, у больных ХЛ неинфицированных вирусом Эпштейна-Барр на фоне Т-клеточной недостаточности отмечалась активация гуморального пути (Th2) в виде увеличения ЦИК (до  $52,18 \pm 6,51$  у.е. по сравнению с  $32,83 \pm 4,09$  у.е. в группе ПЗЛ,  $p < 0,05$ ) и фагоцитарного звена в виде повышения функциональных свойств нейтрофилов: способности к фагоцитозу (до  $65,9 \pm 3,63\%$  по сравнению с  $57,98 \pm 3,06\%$  в группе ПЗЛ,  $p < 0,05$ ) и миелопероксидазной активности (МПО<sub>сп</sub> до  $0,28 \pm 0,05$  у.е. по сравнению с  $0,15 \pm 0,03$  у.е.,  $p < 0,05$ ). Полученные результаты свидетельствуют, что у ВЭБ неинфицированных больных отмечается сохранность элиминационных возможностей при несостоятельности противовирусной защиты.

Тогда, как, в группе вирусоносителей (ВЭБ+), наряду с Т-клеточной недостаточностью, отмечалось угнетение и гуморального пути, что проявлялось снижением уровня IgM (до  $1,26 \pm 0,18$  по сравнению с группой ПЗЛ –  $1,87 \pm 0,15$  г/л,  $p < 0,05$ ), тенденцией к уменьшению ЦИК ( $26,57 \pm 4,68$  у.е., против  $52,18 \pm 6,51$  в группе ВЭБ неинфицированных,  $p < 0,01$  и  $32,83 \pm 4,09$  у.е. в группе ПЗЛ,  $p > 0,05$ ) и комплементарной активности ( $57,60 \pm 6,14$  по сравнению с группой ПЗЛ  $70,34 \pm 1,87$ ,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, у больных ХЛ отмечалось снижение противоинфекционной защиты, особенно у больных с выраженными изменениями СОГ (ГХЛ и АХЛ), сопряжённое с недостаточностью факторов первой линии защиты (элиминационных – фагоцитарное и комплементарное звенья) и адаптивного иммунитета (противовирусная защита –  $CD8^+$ ) на системном уровне. Персистенция вируса Эпштейна-Барр при ГХЛ сопровождается развитием несостоятельности практически всех звеньев иммунитета, в том числе и антительной защиты (комбинированное иммунодефицитное состояние).

Полученные данные обосновывают необходимость применения иммуноглобулинов для внутривенного введения больным ХЛ с выраженными изменениями СОГ с целью повышения эффективности лечения.

Включение в схему терапии ВВИГ больным ХЛ способствовало сокращению сроков лечения – уже к 5–му дню 71% (22 из 31) больных отмечали исчезновение признаков дискомфорта и боли в горле (по сравнению с традиционным лечением – 57% (37 из 65,  $\chi^2=1,21$ ,  $p=0,27$ ) и восстановление голоса (по сравнению с традиционным лечением – 46% (30 из 65,  $\chi^2=4,25$ ,  $p=0,04$ ). При

оценке объективных данных было установлено более раннее исчезновение признаков воспаления и нарушения голосовой функции – восстановление цвета СОГ к 6-му дню лечения отмечалось у 45% (14 из 31) больных, тогда как при традиционном лечении у 31% (20 из 65,  $p>0,05$ ) и нормализация смыкания голосовых складок на 10-12 сутки у 67% (21 из 31) пациентов по сравнению с 14% (9 из 65) больных, получивших традиционную терапию ( $\chi^2=24,9$ ,  $p=0,0005$ ). Выраженная клиническая эффективность терапии внутривенными иммуноглобулинами была отмечена и в группе больных инфицированных ВЭБ – сокращались сроки восстановления голосовой функции до 7 дней (46,6%, по сравнению с 28,6% при традиционном лечении) и нормализации смыкания голосовых складок – 66,6%, против 14,3% при традиционном лечении ( $\chi^2=6,17$ ,  $p=0,014$ ) на фоне улучшения ларингоскопической картины.

Оценка отдалённых результатов лечения больных ХЛ по данным анкетирования (через 1 год) показала выраженное сокращение количества рецидивов в группе больных, получавших внутривенные иммуноглобулины (рисунок 4).

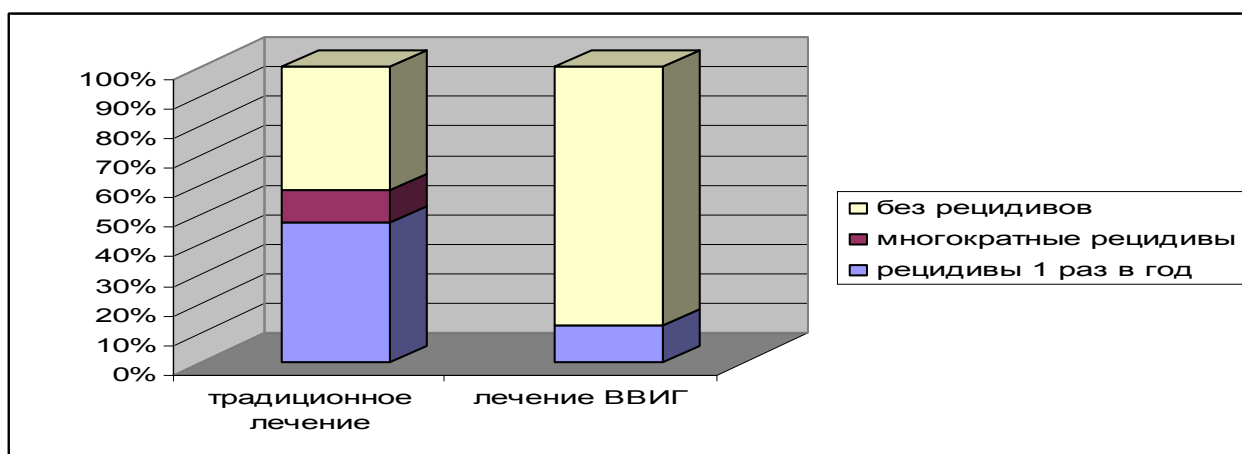


Рисунок 4 - Количество рецидивов лечения больных хроническим ларингитом по данным анкетирования через 1 год в зависимости от способа лечения (%)

Так, в группе больных с традиционной терапией каждый второй – 42,3% (11 из 26) в течение года отмечал рецидив. Более того, у 15% (4 из 26) больных отмечались неоднократные рецидивы. В группе больных, получивших ВВИГ, количество рецидивов было значительно меньше – 12,5% (3 из 24;  $\chi^2=4,12$ ,  $p=0,04$ ), а повторно рецидивирующих не отмечалось ( $\chi^2=2,25$ ,  $p=0,14$ ).

Положительная клиническая динамика при лечении ВВИГ подтверждалась данными в ходе мониторинга иммунологических показателей. При традицион-

ном лечении на системном уровне отмечалось выраженное снижение показателей фагоцитарного звена – фагоцитарной активности до  $44,88 \pm 2,91\%$  (в группе ПЗЛ  $57,98 \pm 3,06\%$ ,  $p < 0,05$ ) и уровня IgG до  $10,16 \pm 0,93$  г/л (в группе ПЗЛ  $13,75 \pm 0,68$  г/л,  $p < 0,01$ ). При введении ВВИГ (Иммуновенин) имелась иная картина – отмечено увеличение количества антител (IgG) в сыворотке крови до  $15,69 \pm 1,59$  г/л, и сохранялась способность нейтрофилов к фагоцитозу –  $52,31 \pm 3,31\%$ .

Непосредственно на СОГ в процессе лечения традиционными методами отмечалось угнетение фагоцитарного звена в виде снижения числа нейтрофилов до  $2,44 \pm 0,95\%$  (в группе ПЗЛ  $13,76 \pm 3,38\%$ ,  $p < 0,01$ ). При введении ВВИГ подобного эффекта не наблюдалось.

Таким образом, включение ВВИГ в схему лечения больных ХЛ способствует повышению клинической эффективности проводимой терапии (сокращение сроков лечения с 14,1 до 11,5 дней и количества рецидивов с 42,3 до 12,5%) и сопровождается иммунной реабилитацией на системном и местном уровнях в отношении фагоцитарного звена.

Основные ключевые моменты иммунопатогенеза хронического ларингита и точек воздействия иммуноглобулинов для внутривенного введения представлены на рисунке 5.

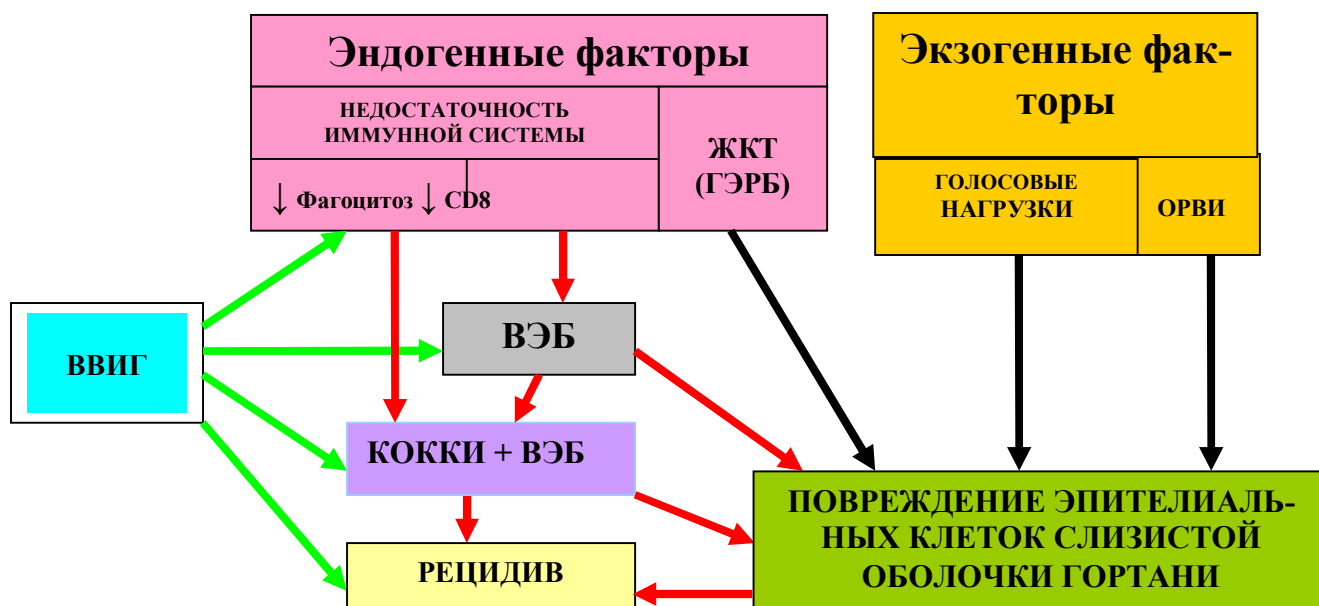


Рисунок 5 - Схема иммунопатогенеза и обоснование лечения иммуноглобулинами для внутривенного введения при хроническом ларингите

## Выводы

1. Иммунная защита на слизистой оболочке гортани у практически здоровых лиц, в отличие от ротовой и носовой полостей, представлена низкой долей секреторных форм антител sIgA (42% против 80% и 73% соответственно) и нейтрофилов (14% против 34% и 51% соответственно), высокой продукцией IgE (ОКС IgE  $16,6 \pm 7,63$  против  $0,19 \pm 0,08$  и  $0,14 \pm 0,07$  соответственно) и содержанием опсопинов – IgG (27% против 6% и 13% соответственно).
2. Адаптационные механизмы местного иммунитета слизистой оболочки гортани у практически здоровых лиц формируются взаимодействием sIgA, IgE и фагоцитарным (нейтрофилы) звеном, при хроническом воспалении – путём увеличения продукции IgE (в 100 раз), повышенной рекрутации антител (IgG, IgM, IgA) из кровеносного русла (в 3-5 раз) и активации фагоцитарной способности нейтрофилов.
3. Иммунное реагирование у больных хроническим ларингитом на системном уровне характеризуется снижением элиминационных возможностей в виде несостоятельности врождённого (фагоцитарное звено) и адаптивного (Т-клеточный – CD8+ лимфоциты) иммунитета.
4. У больных хроническим ларингитом инфицированность вирусом Эпштейна-Барр составляет 64,4% случаев (по сравнению с 6% у практически здоровых лиц), в ассоциации с кокковой флорой – 30%. Иммунологической особенностью явилась комбинированная иммунная недостаточность на системном уровне (Т и В-клеточного и фагоцитарного звеньев). Клинически характеризуется выраженным нарушением голосовой функции (афония у 26% против 10% у больных неинфицированных вирусом), более частыми рецидивами в течение одного года в 2 раза (86% против 43,8% у неинфицированных больных).
5. Включение в схему лечения больных хроническим ларингитом иммуноглобулинов для внутривенного введения (Иммуновенин) способствует нормализации фагоцитарного звена иммунной системы на системном и местном уровнях. Клинически способствует быстрому восстановлению голосовой функции (на 5 день у 71%, по сравнению с 46% у больных с традиционным методом лечения) и сокращением количества рецидивов до 12,5% по сравнению с 42,3 % при традиционном методе лечения.

## Практические рекомендации

1. При рецидивирующем хроническом ларингите показано исследование соскобов слизистой оболочки гортани на присутствие вируса Эпштейна-Барр (ПЦР-диагностика).
2. У больных хроническим ларингитом снижение показателей Т и В – клеточного, фагоцитарного звеньев иммунитета могут служить основанием для иммунозаместительной терапии иммуноглобулинами для внутривенного введения.
3. При обострении хронического ларингита в схему традиционного лечения следует включать введение иммуноглобулинов для внутривенного введения (ВВИГ).

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Даянов, А. Н.** Хронический ларингит, патогенетическая терапия / **А.Н. Даянов**, Н.Т. Габдуллин, Ф.А. Кильсенбаева // Сб. науч. тр. РКБ им. Г.Г.Куватова.- Уфа, 1999. – С.124.
2. Арефьева Н.А. Новые перспективы в лечении фарингита / Н.А. Арефьева, В.Б. Комкова, **А.Н. Даянов** // Сб. РКБ: Актуальные вопросы здравоохранения и практической медицины. Уфа, 2000. – С.77-79.
3. Габдуллин Н.Т. Ларингит / Н.Т. Габдуллин, **А.Н. Даянов**, Н.А. Арефьева // Методические рекомендации для врачей и студентов мед.вузов. – Уфа, 2001.- 35с.
4. Габдуллин Н.Т. Дисфонии / Н.Т. Габдуллин, Н.А. Арефьева, А.А. Цыглин, **А.Н. Даянов**, А.Н. Габдуллин // Методические рекомендации для врачей и студентов мед.вузов. – Уфа, 2002. – 50с.
5. Азнабаева Л.Ф. Состояние иммунной системы больных хроническим воспалительным неспецифическим заболеванием гортани (ларингитом) / Л.Ф. Азнабаева, **А.Н. Даянов**, Н.А. Арефьева, Р.А. Шарипов // Уральский медицинский журнал. 2004.- №6 (7) – С. 2-6.
6. **Даянов А.Н.** Иммуноглобулины для внутривенного введения в лечении больных хроническим ларингитом / **А.Н. Даянов**, Л.Ф. Азнабаева, Н.А. Арефьева, Р.А. Шарипов // Мат-лы XVII съезда оториноларингологов РФ. – Нижний Новгород. 2006. – С.177.
7. Азнабаева Л.Ф. Герпесвирусная инфекция при заболеваниях лор-органов / Л.Ф. Азнабаева, Н.А. Арефьева, Р.А. Шарипов, Ф.А. Хафизова, З.Я. Муртазин,

**А.Н. Даянов**, А.В. Панкратов // Методические рекомендации для врачей и студентов мед.вузов.-Уфа,2007. – 22с.

8. **Даянов А.Н.** Адаптационные механизмы местного иммунитета слизистых оболочек гортани / **А.Н. Даянов**, Л.Ф. Азнабаева, Н.А. Арефьева, Р.А. Шарипов // Методические рекомендации для врачей и студентов мед.вузов.-Уфа, 2010. – 22с.

9. **Даянов А.Н.** Местный иммунитет слизистой оболочки гортани в норме и при хроническом неспецифическом ларингите / **А.Н. Даянов**, Л.Ф. Азнабаева, Н.А. Арефьева // Российская оториноларингология. Мат-лы конф. «Прикладная и фундаментальная наука – российской оториноларингологии». Приложение. – 2010. – №1. – С.366-370.

10. Арефьева Н.А. Внутривенные иммуноглобулины в лечении больных с хронической патологией верхних дыхательных путей / Н.А. Арефьева, Л.Ф. Азнабаева, **А.Н. Даянов**, Н.В. Трофимова // Мат-лы IV научно-практической конф. оториноларингологов центрального федерального округа Российской Федерации. Актуальное в оториноларингологии. – Москва. – 2011. – С.109-110.

11. Азнабаева Л.Ф. Особенности местного иммунитета слизистой оболочки гортани в норме и при воспалительной патологии / Л.Ф. Азнабаева, Н.А. Арефьева, **А.Н. Даянов** // **Российская оториноларингология. 2011.** – №3 (52). – С.6-9.

12. Азнабаева Л.Ф. Способ лечения хронического гиперпластического ларингита / Л.Ф. Азнабаева, Н.А. Арефьева, **А.Н. Даянов**, Р.А. Шарипов // **Патент на изобретение № 2297847. – 2007. – Бюллетень № 12.**

13. Азнабаева Л.Ф. Особенности местного иммунитета слизистой оболочки гортани в норме и при хронической воспалительной патологии / Л.Ф. Азнабаева, Н.А. Арефьева, **А.Н. Даянов** // **Фундаментальные исследования. – 2011. – №9** (электронный журнал). – С. 373-376.