

УДК 616-097

DOI: 10.14427/jipai.2020.4.64

Состояние клеточного иммунитета у детей с повторными респираторными заболеваниями

О.В. Поворова

Могилевский государственный университет имени А.А. Кулешова, г. Могилев, Беларусь

The state of cellular immunity in children with recurrent respiratory diseases

O.V. Povorova

Mogilev State A. Kuleshov University, Mogilev, Belarus

Аннотация

У детей с повторными респираторными заболеваниями определены отклонения от нормы различных показателей системы иммунитета более чем в 85% случаев. Наибольшая доля детей с показателями вне диапазона референсных значений (P3) различных субпопуляций Т и В-лимфоцитов была в возрасте 3-6 лет. У детей снижение уровня В-лимфоцитов (CD19+), а также Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+) сопровождалось повышением уровня Т-лимфоцитов общих (CD3+) и Т-хелперов (CD3+CD4+). Определены самые частые варианты комбинированных нарушений показателей клеточного звена иммунитета: снижение В-лимфоцитов и повышение Т-общих и Т-хелперов - у 40,2% (206 из 512 детей); снижение В-лимфоцитов и снижение Т-цитотоксических - у 42% (215 из 512). Определены схожие закономерности между показателями клеточного иммунитета у детей с повторными респираторными заболеваниями Могилевской и Минской областей: положительные коэффициенты корреляции Спирмена между CD3+/CD4+ Т-лимфоцитами а также между CD3+/CD8+ Т-лимфоцитами, отрицательные - между CD4+/CD8+ Т-лимфоцитами. Доля детей с показателями субпопуляций Т- и В-лимфоцитов в пределах P3 выше у детей Минской области по сравнению с детьми Могилевской области по всем изучаемым показателям (P<0,05). По лейкоцито-Т-лимфоцитарному индексу не выявлено различий между двумя группами детей.

Ключевые слова

Т-лимфоциты, В-лимфоциты, Т-хелперы, Т-цитотоксические, респираторные заболевания

Введение

Дети, часто болеющие респираторными инфекциями, имеют высокий риск формирования различной патологии, среди которых лидируют

Summary

In children with recurrent respiratory diseases, deviations from the norm of various parameters of the immunity system were found in more than 85% of cases. The greatest part of children with indicators outside the range of reference values of the subpopulations of lymphocytes is determined at the age of 3-6 years. In children, a decrease in B lymphocytes (CD19+), as well as T-cytotoxic lymphocytes (CD3+CD8+), is accompanied by an increase in T cells (CD3+) and T helper cells (CD3+CD4+). The most frequent variants of combined disorders of the parameters of the cellular link of immunity were determined: a decrease in B-lymphocytes and an increase in T-cells and T-helpers - in 40.2% (206 out of 512 children); a decrease in B-lymphocytes and a decrease in T-cytotoxic ones - in 42% (215 of 512). Similar correlations between cellular immunity indicators in children with recurrent respiratory diseases of Mogilev and Minsk regions were determined: positive Spearman correlation coefficients between CD3/CD4 and CD3/CD8 T- cells, negative-between CD4/CD8 T- cells. The proportion of children with indices of T- and B-lymphocyte subpopulations within the normal range is higher in children of the Minsk region compared with children in the Mogilev region for all the studied subpopulations of lymphocytes (P<0.05). There were no differences in the leukocyte-T-lymphocyte index between the two groups of children.

Keywords

T-lymphocytes, B-lymphocytes, T-helper, T-cytotoxic, respiratory disease

хронические заболевания органов дыхательной системы. У детей с повторными респираторными заболеваниями выявляются изменения в показателях как клеточного, так и гуморального звеньев

иммунитета в виде повышения, снижения уровней отдельных субпопуляций Т- и В-лимфоцитов при нормальных уровнях других. Изменения показателей иммунной системы у детей с респираторными инфекциями выявляются не только во время острого заболевания, но и на стадии ремиссии, что свидетельствует о существовании определенных закономерностей в развитии иммунного ответа. Определение стабильных изменений иммунного статуса при частых респираторных заболеваниях позволит использовать их в дальнейшем в качестве биомаркеров иммунных нарушений и тем самым предотвратить развитие закономерных патологических процессов. При анализе количества клеточных компонентов, иммуноглобулинов, цитокинов и других маркеров иммунодефицитов в детской популяции встречаются разноречивые данные от повышенного до пониженного содержания этих компонентов у детей. В связи с этим выявление особенностей нарушений иммунного статуса и их закономерностей у детей с повторными респираторными заболеваниями относится к числу актуальных вопросов клинической иммунологии.

Цель исследования - выявить диагностически значимые параметры изменений клеточного звена иммунитета у детей с повторными респираторными инфекциями.

Материалы и методы исследований

Методом морфологического исследования форменных элементов крови проводили дифференциальный подсчет лейкоцитарной формулы. Определяли показатели клеточного иммунитета: CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD19+ методом проточной цитометрии (Beckman Coulter's Navios).

Материалом для исследования служили сыворотка крови, клетки периферической крови. Анализ показателей клеточного и гуморального иммунитета проводился в отделе клинической иммунологии УЗ «Могилевский областной лечебно-диагностический центр» (УЗ «МОЛДЦ»), клинико-диагностической лаборатории УЗ «Минская областная детская клиническая больница» (УЗ «МОДКБ»). В качестве референсных интервалов показателей иммунного статуса приняты референсные значения (РЗ), используемые в данных лабораториях и указанные в таблице 1. Показатели иммунного статуса изучались в двух группах здоровых на момент обследования детей 1-16 лет, часто болеющих респираторными инфекциями:

- группа 1 (Г1): дети, проживающие в Могилевской области, обследование в УЗ «МОЛДЦ» (N=512),

- группа 2 (Г2): дети, проживающие в Минской области, обследование в УЗ «МОДКБ» (N=64).

Статистический анализ проводили с помощью пакета прикладных программ «Statistica 8.0». Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей; рассчитаны коэффициенты ранговой корреляции Спирмена; статистически значимые отличия определялись с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Критический уровень значимости был принят $p < 0,05$. Для количественной оценки процентного отклонения от нормы для каждого показателя, с учетом интервальных возрастных оценок нормы, использовался аппарат теории нечетких множеств. Согласно методике [1, 2] каждый параметр оценивался с помощью трех функций принадлежности к различным состояниям, принимающих значения и меняющиеся по мере приближения к описываемой зоне: от 1 (принадлежность к содержанию ниже нормы) до 0 (отсутствие значений ниже нормы); от 0 до 1 (гарантированная принадлежность к норме каждого параметра); от 1 (гарантированная принадлежность к содержанию выше нормы) до 0 (отсутствие значений выше нормы). За основу при построении функций принадлежности к норме брались существующие нормативные диапазоны значений лабораторий, для расчета ширины переходной зоны в каждом конкретном случае использовались минимальные и максимальные значения показателя в выборке.

Результаты исследований и их обсуждение

Уровень показателей иммунного статуса зависит не только от биологических особенностей объекта исследования (возраста, пола, географических особенностей проживания и т.д.), но и от особенностей их определения: методов, техники проведения исследования, оборудования, реактивов [3, 4, 5]. При оценке лабораторных показателей важным вопросом является их нормирование, которое, в свою очередь, предопределяется материалами и методами исследования. В таблице 1 приведены данные по диапазонам значений показателей клеточного иммунитета, принятые в различных лабораториях.

С учетом особенностей нормирования показателей иммунитета (табл. 1) была рассчитана доля детей в Могилевской и Минской областях с количеством субпопуляций лимфоцитов вне диапазона и в пределах РЗ. У часто болеющих респираторными инфекциями детей 1-16 лет Могилевской области (Г1, табл. 2) определено

количество лейкоцитов в пределах РЗ у 83,8% и у Минской области - 85,9% (Г2, табл. 2) здоровых на момент обследования детей. Ниже РЗ количество лейкоцитов было у 14,8% (Г1) и только у 1,6% (Г2). Для детей с повторными респираторными инфекциями обеих групп было характерно содержание лимфоцитов выше РЗ у 59,4% детей (Г1) и у 50% детей (Г2), что может говорить о хронической вирусной стимуляции даже в отсутствии признаков вирусной инфекции. Некоторые авторы [6, 7, 8], указывали на частое наличие снижения показателей Т-клеточного звена иммунной системы у часто болеющих детей, однако по нашим данным в периоде между заболеваниями у детей более характерным было наличие повышенных показателей Т-клеточного звена. Так, у детей Могилевской области (Г1) общее количество Т-лимфоцитов выше РЗ было у 42,8% детей, у 75,8% детей - количество клеток CD4+

выше РЗ, в то время как снижение показателей CD3+Т-клеток ниже РЗ встречалось реже - у 4,1%, CD3+CD4+ Т-хелперов - у 3,9% детей Г1, снижение CD3+CD4+ Т-хелперов - у 14,1% детей Г2. Уровень Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+) у 77% детей были ниже РЗ в Г1, в то время как у Г2 - только у 1,6% детей. Для детей обеих групп было характерно частое обнаружение сниженного уровня В-лимфоцитов - у 53,5% детей (Г1) и у 18,8% детей Г2.

По процентному соотношению субпопуляций лимфоцитов определены достоверные различия в зависимости от регионального признака проживания объектов исследования. Доля детей Минской области (Г2) с показателями субпопуляций лимфоцитов в пределах РЗ выше по сравнению с детьми Могилевской области (Г1) по всем изучаемым показателям (P<0,05). Доля детей Могилевской области с показателями Т-общих и

Таблица 1. Интервалы референсных значений (РЗ)

Показатели		Hannet [3]		Луговская [4]		УЗ «МОДКБ»		УЗ «МОЛДЦ»	
		1-6 лет	7-16 лет	1-6 лет	7-16 лет	1-6 лет	7-16 лет	1-6 лет	7-16 лет
Лейкоциты	*10 ⁹ л	6,8-10	4,7-7,3			5,0-12,0	4,0-9,0	5,0-12,0	4,0-9,0
Лимфоциты	%	38-53	36-43			20-50	20-50	34-48	18-40
	*10 ⁹ л	2,9-5,1	2,0-2,7			1,2-3,7	1,2-3,7	2,5-6,0	1,2-3,5
CD3+	%	62-69	66-76	62-69	63-69	54-75	58-80	62-69	60-80
	*10 ⁹ л	1,8-3,0	1,4-2,0	1,82-3,01	1,75-3,09	1,7-5,0	1,1-2,3	1,82-3,01	1,0-2,4
CD3+CD4+	%	30-40	33-41	30-40	39-47	30-49	31-50	30-40	33-50
	*10 ⁹ л	1,0-1,8	0,7-1,1	1,02-1,84	0,83-2,11	1,0-3,3	0,59-1,4	1,02-1,84	0,6-1,7
CD3+CD8+	%	25-32	27-35	25-32	23-29	15-30	18-35	25-32	16-39
	*10 ⁹ л	0,8-1,5	0,6-0,9	0,81-1,52	0,49-1,3	0,51-1,65	0,35-1,01	0,81-1,52	0,3-1,0
CD3-CD19+	%	21-28	12-22	_____	_____	15-34	10-25	21-28	5-22
				21-28	5-22				
CD3-CD20+	*10 ⁹ л	0,7-1,3	0,3-0,5	_____	_____	0,555-2,0	0,405-0,715	0,74-1,33	0,04-0,4
				0,74-1,33	0,04-0,4				
CD4/CD8		1,0-1,6	1,1-1,4	1,0-1,6	1,4-2,0	1,0-1,6	1,0-1,4	1,0-1,6	1,2-2,5

Таблица 2. Доля детей (%) с показателями иммунокомпетентных клеток и субпопуляций лимфоцитов (↑РЗ – выше, ↓РЗ – ниже референсных значений) с учетом возрастных особенностей и региональных значений норм

	Г1			Г2		
	РЗ	↑РЗ	↓РЗ	РЗ	↑РЗ	↓РЗ
Лейкоциты	83,8	1,4	14,8	85,9	12,5	1,6
Лимфоциты	35,9	59,4	4,7	46,9	50	3,1
CD3+	53,1	42,8	4,1	84,4	15,6	0
CD3+CD4+	20,3	75,8	3,9	78,1	7,8	14,1
CD3+CD8+	20,3	2,7	77	85,9	12,5	1,6
CD3-CD19+	46,5	0	53,5	78,1	3,1	18,8

Т-хелперов, превышающими РЗ, была значительно больше, чем у детей Минской области ($P < 0,01$). Не выявлены случаи с превышением нормы по содержанию В-лимфоцитов.

Для определения значимых зависимостей между показателями иммунитета при респираторных заболеваниях были рассчитаны коэффициенты корреляции (табл. 3).

В двух группах детей (табл. 3) наблюдались положительные коэффициенты корреляции между CD3/CD4 и отрицательный между CD4/CD8 Т-лимфоцитами. Между CD3/CD8 определен слабый положительный коэффициент корреляции у детей Г1 и умеренный у детей из Г2. У детей Г2 определена отрицательная умеренная зависимость между CD3/CD19, которая отсутствовала у детей Г1. Таким образом, у детей с повторными респираторными заболеваниями определены статистически значимые коэффициенты корреляции между CD3, CD4 и CD8 Т-лимфоцитами.

Медиана, нижние и верхние квартили в двух исследуемых популяциях с учетом возраста представлены в табл. 4.

У детей Г1 показатель медианы Т-хелперов в процентном соотношении был выше по сравнению с Г2, однако в абсолютном количестве Т-хелперов достоверных различий не было. В тоже время, показатели медианы цитотоксических Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов отличались и в процентном, и в абсолютном содержании: CD3+CD8+ Т-лимфоциты, CD3-

CD19+В-лимфоциты были достоверно выше у детей Г2 ($p < 0,05$). У детей Г1 имели место существенные отличия показателей медианы иммунорегуляторного индекса (ИРИ) как от нормальных значений, так и от Г2, что обусловлено низкими значениями Т-цитотоксических лимфоцитов в данной группе. Лейкоцито-Т-лимфоцитарный индекс в двух изучаемых группах сопоставим. Таким образом, у детей двух групп определены различия по содержанию Т-цитотоксических (CD3+CD8+), В-лимфоцитов, уровню ИРИ; не выявлено различий по лейкоцито-Т-лимфоцитарному индексу, содержанию Т-хелперов и Т-общих.

У 96,9% ($n=496$ из 512) детей 1-16 лет Могилевской области, болеющих острыми респираторными инфекциями чаще, чем 6 раз в год, в периоде между заболеваниями были выявлены отклонения от референсных значений показателей иммунитета, причем изменения в клеточном звене (у 92,2%, $n=472$) встречались в 2,3 раза чаще, чем в гуморальном (у 40,2%, $n=206$) звене иммунитета ($p < 0,05$), и более 80% детей имели значимые (более 15% от нормы) отклонения хотя бы одного из показателей системы иммунитета [9].

Среди детей Г1 были изучены показатели клеточного иммунитета, находящиеся вне диапазона РЗ (табл. 5). Необходимо отметить, что у детей в возрасте до 6 лет особенно часто встречалось снижение уровня лейкоцитов, уровня

Таблица 3. Статистически значимые коэффициенты корреляции Спирмена между Т-общими (CD3), Т-хелперами (CD4), Т-цитотоксическими (CD8), В-лимфоцитами (CD19), в зависимости от возраста детей, уровень значимости $p=0,05$

	1-6 лет		7-16 лет		1-16 лет	
	R	p-level	R	p-level	R	p-level
Г1	N=273		N=239		N=512	
лц/лф	-0,2406	0,0001	-0,2201	0,0006	-0,1204	0,0064
CD3/CD4	0,4732	0,0000	0,5024	0,0000	0,4797	0,0000
CD3/CD8			0,1421	0,0280	0,1000	0,0236
CD4/CD8	-0,7689	0,0000	-0,6688	0,0000	-0,7311	0,0000
CD8/CD19			0,2150	0,0008	0,144	0,0011
Г2	N=42		N=22		N=64	
CD3/CD4	0,4821	0,0012			0,4536	0,0002
CD3/CD8	0,4292	0,0046	0,4277	0,0471	0,4123	0,0007
CD4/CD8	-0,3467	0,0245	-0,4456	0,0377	-0,3707	0,0026
CD3/CD19	-0,5895	0,00004	-0,5429	0,009	-0,6414	0,0000
CD8/CD19			-0,485	0,0221		

Таблица 4. Показатели иммунного статуса у детей с повторными респираторными заболеваниями в зависимости от возраста, Ме [25%-75%]

Показатели	Г1		Г2	
	1-6 лет (N=273)	7-16 лет (N=239)	1-6 лет (N=42)	7-16 лет (N=22)
Лейкоциты	*10 ⁹ л 6,1 [5,1-7,3]	5,0 [4,4-6,0]	8,3 [6,9-9,9]	7,1 [6,4-8,9]
Лимфоциты	% 49,0 [42,0-57,0]	43,0 [36,0-49,0]	52,0 [41,0-58,0]	42,0 [34,0-51,0]
	*10 ⁹ л 2,916 [2,412-3,654]	2,193 [1,833-2,736]	3,889 [3,42-4,544]	3,185 [2,542-3,758]
CD3+	% 74,0 [70,0-78,0]	74,0 [70,0-78,0]	68,2 [63,8-72,9]	73,1 [69,5-75,5]
	*10 ⁹ л 2,158 [1,739-2,662]	1,594 [1,317-1,996]	2,831 [2,228-3,354]	2,326 [1,647-2,782]
CD3+CD4+	% 59,0 [41,0-64,0]	60,0 [52,0-64,0]	38,0 [35,2-43,2]	41,5 [37,8-42,9]
	*10 ⁹ л 1,552 [1,157-1,991]	1,231 [0,948-1,619]	1,481 [1,186-2,02]	1,25 [0,886-1,415]
CD3+CD8+	% 12,0 [9,0-23,0]	11,0 [8,0-15,0]	23,5 [20,9-26,1]	25,0 [22,5-29,9]
	*10 ⁹ л 0,364 [0,24-0,671]	0,254 [0,166-0,388]	0,913 [0,79-1,239]	0,76 [0,599-1,139]
CD3-CD19+	% 11,0 [9,0-14,0]	11,0 [9,0-13,0]	21,4 [15,4-26,2]	16,0 [13,5-21,0]
	*10 ⁹ л 0,329 [0,238-0,436]	0,244 [0,164-0,336]	0,809 [0,592-1,158]	0,488 [0,319-0,658]
CD4/CD8	5,0 [1,7-7,4]	5,7 [3,6-7,7]	1,6 [1,4-2,03]	1,6 [1,3-1,9]
Лейкоциты/CD3	2,7 [2,4-3,3]	3,1 [2,7-3,7]	2,9 [2,5-3,4]	3,4 [2,6-3,96]

Таблица 5. Показатели иммунного статуса у детей с повторными респираторными заболеваниями (Г1) с показателями вне диапазона P3, Ме [25%-75%]

Показатели	1-6 лет				7-16 лет			
	↑ P3		↓ P3		↑ P3		↓ P3	
	N	Me [25%-75%]	N	Me [25%-75%]	N	Me [25%-75%]	N	Me [25%-75%]
Лейкоциты	*10 ⁹ л 1		57	4,3 [4,0-4,6]	6	10,4 [9,4-11,4]	19	3,6 [3,3-3,8]
Лимфоциты	% 148	56,0 [52,0-61,5]	22	30,5 [26,0-32,0]	156	47,0 [43,0-52,0]	2	15,0 [13,0-17,0]
	*10 ⁹ л	3,264 [2,777-3,867]		2,0 [1,426-2,610]		2,30 [1,979-2,80]		3,776 [3,008-4,544]
CD3+	% 206	76,0 [73,0-79,0]	16	60,0 [56,5-60,0]	13	85,0 [82,0-86,0]	5	56,0 [56,0-56,0]
	*10 ⁹ л	2,22 [1,8-2,732]		1,728 [1,533-2,192]		1,701 [1,549-1,855]		1,409 [1,262-1,42]
CD3+CD4+	% 205	61,0 [57,0-65,0]	12	27,0 [26,0-27,9]	183	61,0 [59,0-65,0]	8	30,0 [29,0-31,0]
	*10 ⁹ л	1,728 [1,362-2,182]		0,746 [0,652-0,909]		1,362 [1,15-1,69]		0,604 [0,451-0,786]
CD3+CD8+	% 13	38,0 [33,0-41,0]	214	10,0 [8,0-15,0]	1		180	10,0 [8,0-11,0]
	*10 ⁹ л	1,246 [0,855-1,390]		0,301 [0,219-0,441]				0,204 [0,152-0,283]
CD3-CD19+	% 0		273	11,0 [9,0-14,0]	0		1	
	*10 ⁹ л			0,329 [0,238-0,436]				
CD4/CD8	206	6,2 [4,3-8,3]	12	0,8 [0,7-0,9]	183	6,5 [5,25-8,57]	9	1,05 [0,91-1,06]

Т-цитотоксических и В-лимфоцитов, повышенное количество Т-общих, Т-хелперов.

Содержание В-лимфоцитов вне диапазона РЗ определено у 53,5% всей группы детей, при этом все дети 1-6 лет имели содержание CD19 клеток ниже значений РЗ.

У детей с количеством В-лимфоцитов ниже РЗ определены статистически значимые различия с теми, у кого данный показатель в пределах нормы, (табл.6): содержание лейкоцитов, лимфоцитов, Т-цитотоксических лимфоцитов выше; ниже – количество Т-хелперов, IgG, IgA, IgM, ЛТИ, ИРИ.

Для того, чтобы определить значимые изменения в показателях клеточного иммунитета, нами были отобраны те дети, у которых отклонения от нормы составили более 15 %. У многих детей было отклонение более 15% от нормы в сторону повышения или снижения показателя: так по уровню Т-общих (CD3+) показатели значительно сниженные – у 85,7% (у 18 из 21 со снижением уровня Т-общих), значительно повышенные – у 81,1% (у 193 из 219 с повышением

уровня Т-общих); Т-хелперы (CD4+) - у 94,6 % (у 367 из 388 с повышенным уровнем Т-хелперов), Т-хелперы (CD4+) значительно ниже РЗ у 100% (у 20 из 20); Т-цитотоксические (CD8+) значительно повышенные у - 85,7% (у 12 из 14 с повышенным уровнем Т-цитотоксических), Т-цитотоксические (CD8+) значительно сниженные - 92,9% (у 366 из 394 детей со снижением Т-цитотоксических); В-лимфоциты (CD19+) значительно сниженные у - 98,9% (у 271 из 274 со снижением уровня В-лимфоцитов). В табл. 7 приведены доли (%) всех детей и детей со значимыми отклонениями (более 15%) от РЗ изучаемых показателей.

Для того, чтобы определить зависимость изменений иммунного статуса детей от возраста, нами были рассчитаны доли детей с отклонениями от нормы более 15% (с учетом нормирования лаборатории) по каждому году у детей от 1 до 16 лет (табл. 8).

Как видно из данных табл. 8, наибольшая доля детей со значимыми отклонениями от нормы в возрасте 3-6 лет. Среди детей 3-6 лет, по сравне-

Таблица 6. Статистически значимая разница по показателям иммунитета у детей 1-16 лет в зависимости от уровня содержания лейкоцитов, критерий Манна-Уитни при $p < 0,05$

Показатель	Лейкоциты выше РЗ (N=7)					Лейкоциты ниже РЗ (N=76)			
	Me [25%-75%]	Me [25%-75%]	U	Z	p-level	Me [25%-75%]	U	Z	p-level
Лимфоциты, %	45,0 [39,0-52,0]	32,0 [18,0-42,0]	586,5	2,7684	0,0056	49,0 [45,0-57,5]	11509,0	-4,0898	0,0000
IgM, мг/мл	1,0 [0,75-1,4]					0,84 [0,6-1,1]	12662,5	3,1067	0,0019
ЛТИ	2,98 [2,6-3,6]	4,1 [2,9-7,3]	715,5	-2,3768	0,0175	2,7 [2,3-3,1]	11480,0	4,1125	0,0000

Таблица 7. Доля (%) детей Г1 с показателями клеточного иммунитета вне диапазона РЗ (>15% - дети с отклонениями от нормы более 15%)

	1-6 лет		7-16 лет		1-16 лет	
	все	>15%	все	>15%	все	>15%
CD3↑	40,2	35,2	2,5	2,5	42,8	37,7
CD3↓	3,1	2,5	1,0	1,0	4,1	3,5
CD4↑	40,0	37,3	35,7	34,4	75,8	71,7
CD4↓	2,3	2,3	1,6	1,6	3,9	3,9
CD8↑	2,5	2,1	0,2	0,2	2,7	2,3
CD8↓	41,8	38,1	35,2	33,4	76,95	71,5
CD19↓	53,3	52,7	0,2	0,2	53,5	52,9

Таблица 8. Количество (шт.) и доля (% из 512) детей Г1 с отклонениями от нормы свыше 15% в зависимости от возраста

		лц↓	лц↑	лф↓	лф↑	CD3↓	CD3↑	CD4↓	CD4↑	CD8↓	CD8↑	CD19↓	Всего детей
1 г	шт.	4	0	1	14	2	16	0	19	19	0	20	95
	%	0,8	0	0,2	2,7	0,4	3,13	0	3,7	3,7	0	3,9	18,6
2 г	шт.	5	0	0	18	2	18	0	14	15	2	23	97
	%	1	0	0	3,5	0,4	3,5	0	2,7	2,9	0,4	4,5	18,95
3 г	шт.	7	1	5	29	2	46	2	45	46	3	66	252
	%	1,4	0,2	1	5,7	0,4	8,98	0,4	8,8	8,98	0,6	12,9	49,2
4 г	шт.	10	0	1	23	2	40	5	43	42	3	60	229
	%	2	0	0,2	4,5	0,4	7,8	0,98	8,4	8,2	0,6	11,7	44,7
5 л	шт.	9	0	6	15	3	30	3	36	37	2	53	194
	%	1,8	0	1,2	2,9	0,6	5,9	0,6	7,03	7,2	0,4	10,4	37,9
6 л	шт.	13	0	5	16	2	30	2	34	36	1	48	187
	%	2,5	0	1	3,1	0,4	5,9	0,4	6,6	7,03	0,2	9,4	36,5
7 л	шт.	2	1	0	12	0	2	1	19	18	0	0	55
	%	0,4	0,2	0	2,3	0	0,4	0,2	3,7	3,5	0	0	10,7
8 л	шт.	2	0	0	17	0	2	0	22	20	0	0	63
	%	0,4	0	0	3,3	0	0,4	0	4,3	3,9	0	0	12,3
9 л	шт.	1	1	0	12	2	1	2	15	17	0	1	52
	%	0,2	0,2	0	2,3	0,4	0,2	0,4	2,9	3,3	0	0,2	10,2
10 л	шт.	2	1	1	11	0	3	0	19	17	0	0	54
	%	0,4	0,2	0,2	2,1	0	0,6	0	3,7	3,3	0	0	10,6
11 л	шт.	1	0	0	18	1	1	2	18	17	0	0	58
	%	0,2	0	0	3,5	0,2	0,2	0,4	3,5	3,3	0	0	11,3
12 л	шт.	4	1	2	9	0	2	1	16	14	0	0	49
	%	0,8	0,2	0,4	1,8	0	0,4	0,2	3,1	2,7	0	0	9,6
13 л	шт.	2	0	0	8	1	1	0	14	14	0	0	40
	%	0,4	0	0	1,6	0,2	0,2	0	2,7	2,7	0	0	7,8
14 л	шт.	0	1	0	9	1	0	1	18	18	0	0	48
	%	0	0,2	0	1,8	0,2	0	0,2	3,5	3,5	0	0	9,4
15 л	шт.	3	0	0	12	0	0	0	15	16	0	0	46
	%	0,6	0	0	2,3	0	0	0	2,9	3,1	0	0	8,98
16 л	шт.	1	0	0	9	0	1	1	20	20	1	0	53
	%	0	0	0	1,8	0	0,2	0,2	3,9	3,9	0,2	0	10,4

нию с другими возрастными, больше всего тех, у кого содержание Т-общих и Т-хелперных лимфоцитов со значениями выше РЗ, цитотоксических Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов – ниже РЗ. Таким образом, критической возрастной группой являются дети 3-6 лет, т.к. среди них наибольшая доля с показателями иммунных клеток вне диапазона РЗ.

Для изучения фенотипов иммунного статуса были выбраны дети с Т- и В-клеточным дефицитом. Вариации сочетаний клеток вне диапазона РЗ у детей Г1 представлены в таблице 9.

Значимый дефицит В-лимфоцитов определен у 52,9% детей. Из всех сочетаний CD19↓ и содержания различных субпопуляций лимфоцитов ниже РЗ наиболее часто встречалось сочетание снижения уровня В-лимфоцитов и Т-цитотоксических (CD19↓CD8↓) (215 из 274, 42%), в то же время как сочетание снижения уровня В-лимфоцитов и повышения Т-цитотоксических (CD19↓CD8↑) - только у 13 (2,5%) из 274 (табл. 9). При снижении уровня В-лимфоцитов (CD19↓) так же нередко было повышение уровня Т-общих

Таблица 9. Сочетание показателей клеточного иммунитета у детей Г1 со значением CD19 ниже P3

	Все (N=274)		Отклонения более 15% (N=271)	
	шт.	% из 512	шт.	% из 512
CD19↓лф↑	149	29,1	78	15,2
CD19↓лф↓	22	4,3	16	3,1
CD19↓лф↓лц↓	3	0,6	3	0,6
CD19↓лф↓CD3↑	16	3,1	20	3,9
CD19↓лц↑	1	0,2	1	0,2
CD19↓лц↓	57	11,1	34	6,6
CD19↓лц↓CD3↑	42	8,2	20	3,9
CD19↓лц↓CD3↓	2	0,4	1	0,2
CD19↓лц↓CD4↑	43	8,4	32	6,3
CD19↓лц↓CD4↓	2	0,4	0	0,0
CD19↓лц↓CD8↑	1	0,2	12	2,3
CD19↓лц↓CD8↓	45	8,8	194	37,9
CD19↓CD3↑	206	40,2	136	26,6
CD19↓CD3↓	16	3,1	8	1,6
CD19↓CD4↑	206	40,2	180	35,2
CD19↓CD4↓	12	2,3	2	0,4
CD19↓CD3↑CD4↑	172	33,6	134	26,2
CD19↓CD4↑лф↑	114	22,3	75	14,6
CD19↓CD4↑лф↓	19	3,7	15	2,9
CD19↓CD4↑лц↑	1	0,2	1	0,2
CD19↓CD4↑лц↓	43	8,4	32	6,3
CD19↓CD8↓	215	42,0	194	37,9
CD19↓CD8↓лф↑	117	22,9	78	15,2
CD19↓CD8↓лф↓	19	3,7	16	3,1
CD19↓CD8↓лц↑	1	0,2	1	0,2
CD19↓CD8↓лц↓	45	8,8	34	6,6
CD19↓CD8↓CD3↑	162	31,6	136	26,6
CD19↓CD8↓CD3↓	14	2,7	8	1,6
CD19↓CD8↓CD4↑	190	37,1	180	35,2
CD19↓CD8↓CD4↓	4	0,8	2	0,4
CD19↓CD8↑	13	2,5	10	2,0

и Т-цитотоксических (CD19↓CD3↑/CD4↑) – у 40,2% (206 детей из 274 со сниженным содержанием CD19), фенотип со снижением и В-лимфоцитов и субпопуляций Т-клеток CD19↓CD3↓/CD4↓ встречался гораздо реже (3,1%, у 16 из 274, p<0,05). Комбинация, когда имело место снижение уровня В-лимфоцитов и Т-цитотоксических в сочетании с повышением уровня Т-общих и Т-хелперов (CD19↓CD8↓CD3↑/CD4↑) в изучаемой популяции детей на третьем месте по частоте встречаемости – 31/37% (у 162/190 детей). Наиболее

часто при В-клеточном дефиците встречались вариации сочетания из двух-трех показателей субпопуляций клеток со значениями вне интервала P3. При наличии изменений в двух показателях субпопуляций клеток наиболее часто встречались следующие вариации со значимыми отклонениями: CD19↓CD3↑ (26,6%), CD19↓CD4↑ (35,2%), CD19↓CD8↓ (37,9%).

У детей с респираторными инфекциями при сниженном содержании Т-цитотоксических наблюдались следующие варианты нарушений (табл. 10).

Таблица 10. Варианты измененных показателей клеточного иммунитета у детей Г1 со значением CD8 ниже P3

	Все (N=21)		Отклонения более 15% (N=18)	
	шт.	% из 512	шт.	% из 512
CD3↓лф↑	12	2,3	7	1,4
CD3↓лц↓	2	0,4	1	0,2
CD3↓CD4↑	5	1,0	2	0,4
CD3↓CD4↓	8	1,6	8	1,6
CD3↓CD8↓	16	3,1	10	2,0
CD3↓CD19↓	18	3,5	13	2,5

Наиболее часто имело место снижение содержания цитотоксических Т-лимфоцитов со следующими вариациями сочетаний нарушений в 2 субпопуляциях: снижение Т-цитотоксических и повышение уровня Т-хелперов (CD8↓CD4↑) – у 67,6%, снижение Т-цитотоксических и повышение уровня Т-общих (CD8↓CD3↑) – у 27,7%, CD8↓лф↑ (32,4%), CD8↓CD19↓ (37,9%).

Среди детей Г2 снижение уровня В-лимфоцитов определено у 18,8% (N=12), Т-клеточный дефицит выявлен у 15,6% (N=10): недостаток CD8 только у одного человека (при этом все остальные показатели в пределах P3), дефицит CD3 не выявлен, дефицит CD4 у 14,1% (N=9). У детей Г2 определены следующие вариации сочетания клеток со значениями вне диапазона P3: снижение уровня В-лимфоцитов с повышением уровня Т-общих (CD19↓CD3↑) – у 12,5%; CD4↓CD8↑ у- 7,8%; снижение уровня В-лимфоцитов с повышением уровня Т-цитотоксических (CD19↓CD8↑), снижение уровня В-лимфоцитов с повышением уровня Т-цитотоксических и Т-общих CD19↓CD3↑CD8↑ по 4,7%.

Заболевания дыхательной системы являются самыми распространенными в детском возрасте, при этом нормальной частотой является шесть-восемь эпизодов в младенчестве за осенне-весенний период, от двух до четырех случаев у детей старшего возраста [10]. Адаптационные возможности иммунитета, его дефектное звено возможно оценить при изучении изменений в иммунограммах у детей с частыми заболеваниями, при этом за две недели до обследования не должно быть никаких физиологических отклонений в функционировании всех органов и систем [5]. Изучение изменений показателей иммунограммы при повторных респираторных заболеваниях на популяционном уровне позволяет определить основные закономерности и в

дальнейшем контролировать развитие патологического процесса. Оценка состояния иммунной системы в целом дает суммарный результат изменений, при этом на фоне клинического благополучия недостающая функция одних компонентов компенсируется избытком других при показателях иммунного статуса далеких от показателей нормы здоровых детей [8, 11]. Однотипное изменение показателей иммунного статуса детей одного возраста при состоянии внешнего благополучия может расцениваться в качестве благоприятного/неблагоприятного симптома [12]. В тоже время, у внешне здоровых людей большая вариабельность специфических компонентов иммунной системы: частота CD4+ Т-клеток в общей популяции Т-клеток колеблется в пределах 22-90%, доля CD8+ Т-клеток-в пределах 6-65%, В-клеток колеблется в пределах 4-69% от общего числа лимфоцитов [13]. При дефиците иммуноглобулинов уровень В-лимфоцитов может быть снижен в раннем возрасте, и быть в пределах нормы, например, при дефиците IgA определяется нормальный уровень В лимфоцитов у 93% [14]. С рецидивирующими респираторными бактериальными инфекциями ассоциированы дефициты специфических антител (SAD) как первичное иммунодефицитное заболевание, при этом иммунограмма характеризуется нормальным уровнем общих IgG, IgA, IgM, IgE [15, 16]. При респираторных вирусных заболеваниях количество CD8-лимфоцитов может увеличиваться в два раза, медиана составляет 17% у вирус инфицированных и 9% в группе без вирусных заболеваний; количество CD4 лимфоцитов увеличивается не значительно, медиана 10% и 8% у вирус инфицированных и не инфицированных группах детей [17]. Более тяжелую патологию вызывают респираторные вирусные инфекции у больных бронхиальной

астмой, т.к. изменяется восприятие клеткой вирусов, по иному запускаются внутриклеточные сигнальные пути при хронических заболеваниях. Так, например, на мышинных моделях астмы обнаружены в повышенном количестве IL2s, вызывая персистенцию, воспаление дыхательных путей и гиперреактивность, а антиген-специфичные CD4 Т-клетки не были обнаружены [18].

Наиболее информативным и высокочувствительным показателем иммунограммы являются Т-лимфоциты, перемещающиеся при воспалительном процессе в направлении патологического процесса и нормализующиеся в последнюю очередь, поэтому уровень данного показателя может рассматриваться как один из критериев полного окончания воспалительного процесса [5]. Нами определено, что среди детей с частыми респираторными заболеваниями чаще наблюдался избыток CD3+ и CD4+ Т-лимфоцитов и недостаток CD8+ Т-лимфоцитов, причем избыток CD4 у некоторых детей был почти в 1,5 раза. Высокий уровень CD4-лимфоцитов и низкое содержание CD8-лимфоцитов, высокое соотношение CD4/CD8 (выше 3) характерно для начальных стадий воспалений [5], что нами было определено у здоровых детей из группы часто болеющих респираторными инфекциями. Высокий уровень Т-клеток указывает на вялое течение воспалительного процесса с высоким уровнем его хронизации [5]. На показатели иммунитета влияет множество факторов окружающей среды, например, доказано, что на количество Т-лимфоцитов, уровень IgA влияет качество питания, содержание в нем микроэлементов, витаминов, поэтому возможна корректировка их уровня пищевыми добавками [19]. В качестве модулятора иммунного ответа рассматривают IgG [20], эндокринразрушающие синтетические химические вещества [21], ожирение [22], психологический стресс [23]. Различен механизм воспалительной реакции и иммунного ответа после заражения различными микроорганизмами [6, 24], например респираторно-синцитиальными вирусами и риновирусами [25], зависящий от эволюционных особенностей рецепторов распознавания [26]. Иммунитет в раннем возрасте имеет решающее значение для определения состояния здоровья на протяжении всей жизни [27, 28], на его состояние влияют особенности внутриутробного развития и рождения [29], так, у недоношенных детей до 6 месяцев высокий уровень ИРИ и

CD4, содержание В-лимфоцитов различно [30]. Сложная многокомпонентная система, такая как иммунная система, может вовлекать различные адаптивные стратегии, компенсаторные пути и функциональную избыточность для поддержания своих жизненных функций [30].

Выводы

1. Более чем у 85% детей с повторными респираторными инфекциями в периоде между заболеваниями выявляются значимые нарушения в системе иммунитета, причем чаще определяются нарушения в системе клеточного иммунитета, чем изменения уровня иммуноглобулинов ($p < 0,05$).
2. Наиболее частым дефицитом в клеточном звене иммунитета у детей Могилевской области был дефицит Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+) и дефицит В – лимфоцитов (CD3-CD19+), $p < 0,05$.
3. Определены различия по содержанию Т- и В-субпопуляций лимфоцитов у детей Минской и Могилевской областей: доля детей с показателями субпопуляций клеток в пределах P3 выше у детей Минской области по сравнению с детьми Могилевской областью по всем изучаемым субпопуляциям лимфоцитов ($p < 0,05$). Между показателями клеточного иммунитета у детей Могилевской и Минской областей определены схожие закономерности: положительные коэффициенты корреляции Спирмена между CD3/CD4 и CD3/CD8, отрицательные – между CD4/CD8.
4. Наибольшая доля детей со значимыми отклонениями от нормы показателей клеточного звена иммунитета выявлена в возрасте 3-6 лет. Среди детей 3-6 лет, по сравнению с другими возрастными группами, больше всего тех, у кого содержание Т-общих и Т-хелперов со значениями выше P3, а цитотоксических Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов – ниже P3, причем снижение CD3-CD19+ В-лимфоцитов в основном имело место у детей в возрасте до 6 лет.
5. У детей снижение В-лимфоцитов (CD19+), а также Т-цитотоксических (CD8+) сопровождается повышением Т-общих и Т-хелперов. Определены самые частые варианты комбинированных нарушений показателей клеточного звена иммунитета: снижение В-лимфоцитов и повышение Т-общих и Т-хелперов - у 40,2% (206 из 512 детей); снижение В-лимфоцитов и снижение Т-цитотоксических - у 42% (215 из 512).

Литература

1. Методика определения и региональные нормативы объема щитовидной железы у детей и подростков Беларуси. Методические рекомендации. / Дымова Л.Г., Карпелев Г.М., Чергерова Т.И., Севастьянов П.В., Остапенко С.М., Остапенко В.А. - Могилев, БелНИИЭПП. - 2000. - 23 с.
2. Прокопович А.С., Чергерова Т.И., Воробей Е.В., Громова А.И., Кручинский Н.Г. Многокритериальная оценка результатов клинико-лабораторных исследований. Клиническая лабораторная диагностика 2004; №9: 22-23.
3. Hannel I, Erkeller-Yuksel F, Lydyard P, Deneys V, De Bruyere M. Lymphocyte populations as a function of age. *Immunol Today*. 1992; 13: 215-8.
4. Луговская С.А., Почтарь М.Е., Тупицын Н.Н. Иммунофенотипирование в диагностике гемобластозов. М. - Тверь, 2005, 168 с.
5. Интерпретация иммунограммы при воспалительных процессах: учеб. пособие / Сост.: А.А. Корженевский. - Уфа: Изд-во ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2017. - 115 с.
6. Sharapova S.O., Pashchenko O.E., Guryanova I.E., et. al. Recent thymic emigrants, T regulatory cells, and BAFF level in children with X-linked agammaglobulinaemia in association with chronic respiratory disease. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aller.2017.01.011>.
7. Baert M.R.M., Koning H., Neijens H.J., et. al. Role of the immune system in allergic children. *Pediatr Allergy Immunol*. 1995; Vol. 6 (suppl 7): 27-30.
8. Brodin P. New approaches to the study of immune responses in humans. *Human Genetics*. 2020; Vol. 139:795-799. <https://doi.org/10.1007/s00439-020-02129-3>.
9. Поворова, О.В. Варианты дисиммуноглобулинемий у детей с частыми респираторными инфекциями / О.В. Поворова, Н.Д. Титова, В.А. Ливинская, М.Н. Вишняков // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2020. - № 2. – С. 6-14.
10. de Vries E. Immunological investigations in children with recurrent respiratory infections. *Paediatric respiratory reviews*. 2001; Vol. 2: 32-36. <https://doi.org/10.1053/prrv.2000.0099>.
11. Rytter M.J.H., Kolte L., Briend A., et. al. The Immune system in children with malnutrition — a systematic review. *PLoS ONE*. 2014; 9(8): e105017. doi:10.1371/journal.pone.0105017
12. Chandra R.K. Nutrition and immunology: from the clinic to cellular biology and back again. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1999; Vol. 58: 681-683.
13. Cassimos D.C., Liatsis M., Stogiannidou A., et. al. Children with frequent infections: A proposal for a stepwise assessment and investigation of the immune system. "The immune defense to foreign invaders' Symphony. Which instrument is out of tune? *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: 463-473.
14. Brodin P, Davis M.M. Human immune system variation. *Nat Rev Immunol*. 2017; Vol. 17 (1): 21-29. doi:10.1038/nri.2016.125.
15. El-Bohy M., Poowuttikul P, Secord E. Humoral immune deficiencies of childhood. *Pediatr Clin N Am*. 2019; Vol. 66: 897-903. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2019.06.010>
16. Perez E.E., Ballow M. Diagnosis and management of specific antibody deficiency. *Immunol Allergy Clin N Am*. 2020; Vol. 40: 499-510.
17. Quezada A., Norambuena X., Inostroza J., et. al. Specific antibody deficiency with normal immunoglobulin concentration in children with recurrent respiratory infections. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aller.2014.07.009>.
18. De Souza Costa Jr. V. H., Baurakiades E., Azevedo M. L. V., et. al. Immunohistochemistry analysis of pulmonary infiltrates in necropsy samples of children with non-pandemic lethal respiratory infections (RSV; ADV; PIV1; PIV2; PIV3; FLU A; FLU B). *J. Clinical Virology*. 2014; Vol. 61: 211-215.
19. Farne H.A., Johnston S.L. Immune mechanisms of respiratory viral infections in asthma. *Current Opinions in Immunology*. 2017; Vol. 48: 31-37.
20. Chandra R.K. Nutrition and immunology: from the clinic to cellular biology and back again. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1999; Vol. 58: 681-683.
21. Wasserman R.L. Immunoglobulin replacement. *Stiehms Immune Deficiencies*. 2020; 55: 1143-1156. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816768-7.00055-7>.
22. Nowak K., Jablonska E., Ratajczak-Wrona W. Immunomodulatory effects of synthetic endocrine disrupting chemicals on the development and functions of human immune cells. *Environment International*, 2019; 125: 350-364. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.078>.
23. Umamo G.R., Pistone C., Tondina E., et. al. Pediatric Obesity and the Immune System. *Front. Pediatr*. 2019; Vol. 7:487. doi: 10.3389/fped.2019.00487.
24. Reid M.R., Mackinnon L.T., Drummond P.D. The effects of stress management on symptoms on upper respiratory tract infection, secretory immunoglobulin A, and mood in young adults. *J Psychosomatic Research*. 2001; Vol. 51: 721-728.
25. Hernandez-Trujillo V.P. Approach to children with recurrent infections. *Immunol Allergy Clin N Am*. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.iac.2015.07.005>.
26. Vandini S., Calamelli E., Faldella G., et. al. Immune and inflammatory response in bronchiolitis due to respiratory syncytial virus and rhinovirus infections in infants. *Paediatric Respiratory Reviews*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prrv.2016.11.006>.
27. Minnicozzi M., Sawyer R.T., Matthew J, Fenton innate immunity in allergic disease. *Immunological Reviews*. 2011; Vol. 242: 106-127.
28. Lloyd C.M., Saglani S. Development of allergic immunity in early life. *Immunol Rev*. 2017; 278: 101-115. <https://doi.org/10.1111/imr.12562>.
29. Verhoeven D. Immunometabolism and innate immunity in the context of immunological maturation and respiratory pathogens in young children. *J Leukoc Biol*. 2019; 1-8. <https://doi.org/10.1002/JLB.MR0518-204RR>.
30. Yu J.C., Khodadadi H., Malik A., Davidson B, et. al. Innate Immunity of Neonates and Infants. *Front. Immunol*. 2018; Vol. 9: 1759. doi: 10.3389/fimmu.2018.01759
31. Perez E.E., Ballow M. Diagnosis and management of specific antibody deficiency. *Immunol Allergy Clin N Am*. 2020; Vol. 40: 499-510.
32. Sriks I.M., Pichetteb J., Carrierb C. , et. al. Quantitative analysis of T and B cell subsets in healthy and sick premature infants. *Early Human Development*. 1991; Vol. 26: 143-154.

Сведения об авторе:

О.В. Поворова – старший преподаватель кафедры естествознания Могилевского государственного университета им. А.А. Кулешова.
Электронный адрес: povorov@mail.ru.

Поступила 18.09.2020 г.