

УДК 616.2-053.4:612.017.1-071

Мониторинг иммунного статуса и иммунореабилитация детей с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей

С.В. Зыблева, П.Д. Новиков

Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

Monitoring of the immune status and immunorehabilitation of children with recurrent upper respiratory tract infections in remission

S.V. Zybleva, P.D. Novikov

State institution "The Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

Аннотация

Проведена оценка иммунного статуса у 30 детей в возрасте 2-6 лет из группы часто и длительно болеющих с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей, включающая в себя иммунофенотипирование лейкоцитов по маркерам: CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD11a, CD14, CD18, CD19, CD22, CD25, CD28, CD40, CD45, CD71, CD95, CD154, HLA-DR, LPS трехкратно: до проведения через 10 дней и 2 месяца после курса иммунореабилитации. В результате исследования выявлено, что рецидивирующие заболевания верхних дыхательных путей у детей сопровождаются снижением количества CD3⁺CD8⁺CD28⁺, LPS⁺CD19⁺, LPS⁺CD3⁺, CD154⁺ - субпопуляций лимфоцитов и нейтрофилов, экспрессирующих CD11a⁺ и CD18⁺ рецепторы и нормализацией этих показателей после иммунореабилитации.

Ключевые слова

Респираторные заболевания, дети, иммунный статус.

Summary

The immune status estimation of 30 children at the age of 2-6 years from the frequently falling-ill group with recurrent upper respiratory tract infections, including immunophenotype of leukocytes (on receptors CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD11a, CD14, CD18, CD19, CD22, CD25, CD28, CD40, CD45, CD71, CD95, CD154, HLA-DR, LPS) three times: before the immunorehabilitation, in 10 days and 2 months after the course. As a result of the study it was found that remission diseases of recurrent upper respiratory tract infection in children are accompanied by dynamic changes in the number of CD3⁺CD8⁺CD28⁺, LPS⁺CD19⁺, LPS⁺CD3⁺, CD154⁺ - subpopulations of lymphocytes and neutrophils with CD11a⁺ and CD18⁺ receptors.

Keywords

Recurrent respiratory infections, children, immune status.

Структура дефектов иммунной системы у часто болеющих детей (ЧДБ), судя по данным литературы, полиморфна [1, 2, 3, 4, 5]. В связи с этим поиски клинко-иммунологических особенностей у детей, часто подверженных острым респираторным заболеваниям, относятся к числу актуальных проблем. При анализе факто-

ров риска и механизмов формирования нарушений в иммунной системе у часто болеющих детей трудно выделить один ведущий фактор. Как правило, на организм ребенка влияют несколько факторов и запускаются разные механизмы, вызывающие иммунные нарушения и усиливающие их тяжесть. С одной стороны,

значительная часть исследователей, не найдя грубых изменений в иммунном статусе при состоянии частых эпизодов респираторных инфекций считает, что такой проблемы вообще не существует, состояние ЧДБ является вариантом физиологической нормы и не требует каких-либо корригирующих вмешательств [6, 7, 8, 9]. С другой стороны, не менее значительная часть исследователей находят те или иные изменения в иммунном статусе и отстаивают позицию о том, что состояние ЧДБ это не норма, а переходное состояние между здоровьем и болезнью, формирующая хронические воспалительные процессы, и именно это состояние является наиболее оптимальной точкой приложения профилактических воздействий [3, 10]. При анализе количества клеточных компонентов, иммуноглобулинов, цитокинов и др., встречаются разноречивые данные от повышенного до пониженного содержания этих компонентов со значительным удельным весом вариантов нормы [11, 12]. Так, в работах В. К. Таточенко [8], М. Н. Ярцева [9] и других не найдено существенных различий в количестве Т- и В-лимфоцитов между группами ЧДБ и здоровыми; лишь у единичных пациентов из группы ЧДБ зарегистрированы нарушения фагоцитоза, содержания иммуноглобулинов, интерлейкинов и т.д. Подобные результаты зарегистрированы в работах других авторов [3, 4], однако в их работах сделан следующий шаг – попытка функциональной оценки состояния иммунной системы и здесь получены существенные различия между группами здоровых и ЧДБ. Причем очень важно, что характерные для ЧДБ сдвиги регистрировались как во время обострения, так и на стадии ремиссии. Это свидетельствовало не о транзиторности функциональных дефектов иммунной системы, а о стабильности сдвигов, связанных с состоянием ЧДБ и подтверждало необходимость особого внимания врачей к этой группе, как к группе риска в формировании самой разнообразной патологии и, прежде всего, хронических воспалительных заболеваний.

Современные методы иммунофенотипирования с использованием двойных и тройных меченых моноклональных антител (МКАТ), позволяют оценивать различные субпопуляции и популяции иммунокомпетентных клеток, экспрессию маркеров активации, функциональную активность клеток, апоптоз различных клеточных субпопуляций с оценкой их функциональ-

ного значения и в конечном итоге назначать адекватную иммунокорректирующую терапию и иммунопрофилактику [5, 13, 15].

Целью работы явилась оценка иммунного статуса детей из группы часто и длительно болеющих с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей в динамике в период ремиссии.

Было обследовано 30 детей в возрасте 2-6 лет из группы часто и длительно болеющих детей с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей. В опытную группу были отнесены дети с частыми инфекционными заболеваниями верхних дыхательных путей: ринитами, фарингитами (соответственно J.01, J.02), не имеющие на момент осмотра клинических данных в пользу инфекционного процесса. Контрольную группу составили 20 здоровых детей не болевшие по данным анамнеза и формы 112У в течение месяца до обследования острыми инфекционными заболеваниями. Для обследованных получены информированные согласия от родителей на проведение дополнительных исследований.

Материалом для исследования служили клетки периферической крови и сыворотка крови.

Определение иммунофенотипа лейкоцитов и лимфоцитов проводилось на основе моноклональных антител (МКАТ) фирмы “Beckman Coulter”, Франция к CD3 (Fitc), CD4(Fitc, PE), CD8 (PC-5, PE), CD56+16 (PE), CD11a (PE), CD14, CD18 (Fitc), CD19, CD22 (Fitc), CD25(PC-5), CD28(PC-5), CD40(PE), CD45 (Fitc, PC-5), CD71 (Fitc), CD95 (PE), CD154 (PE), HLA-DR (PC-5), фирмы “Sigma” LPS (Fitc), с использованием проточного цитофлуориметра «PAS» (производства фирмы Partec, Германия) с применением двух- и трехпараметрического анализа согласно инструкции производителя.

Определение в сыворотке крови иммуноглобулинов G, M, A, E и C3, C4-компонентов комплекса проводилось турбодиметрическим методом с помощью автоматического анализатора «Architect c8000» («Abbott», США); фагоцитоз определяли стандартным методом, вычисляли фагоцитарный индекс и фагоцитарное число.

Статистическую обработку полученных данных проводили на ПЭВМ-IBM с использованием пакета прикладных статистических программ “Statistica” версии 6.0. Проверка гипотез о виде распределения количественных признаков осуществлялась с помощью критерия Шапиро-Уилка.

Результаты считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости менее 0,05. Описательная статистика качественных признаков представлена абсолютными и относительными частотами, а количественных признаков - в формате: медиана (интерквартильный размах) – Me [LQ/UQ].

Для сравнения значений использовался метод числовых характеристик (по критерию Манна-Уитни и Вилкоксона) с оценкой распределения переменных. Связь показателей с помощью корреляционного анализа оценивали по методу Спирмана и Кендала [15].

С целью сравнения групп по полу проводился анализ таблиц сопряженности с использованием двустороннего точного критерия Фишера. Статистически значимых различий по этому показателю между группами ($p=0,43$) не выявлено. Полученные результаты указывают на сопоставимость групп по полу и возрасту, что позволяет проводить дальнейший анализ данных.

Клинически и лабораторно были обследованы 30 детей. Проводилась оценка состояния лимфоэпителиальной глоточной системы (ЛЭГС). При этом было выявлено: из 24 осмотренных ЛОР врачом у 10 человек (32,3%) увеличены аденоиды, у 7 (22,6%) увеличены аденоиды и гипертрофированы небные миндалины. При УЗИ - исследовании шейной и подчелюстной групп лимфатических узлов из 30 человек у 4 (13,3%) лимфаденопатия выявлена не была, у 14 детей (46,7%) отмечалась подчелюстная лимфаденопатия, у 2 (6,7%) - шейная, у 10 (33,3%) подчелюстная и шейная лимфаденопатия.

Бактериологическое исследование выявило наличие бактериального инфицирования у 14 (47%) детей: *Staphylococcus aureus* в 57,2% случаев, *Haemophilus influenzae* - в 14%, *Streptococcus haemolyticus* - в 7,2%, *Staphylococcus pyogenes* - 7,2%, *Candida albicans* - 7,2%, *Branhamella catarrhalis* в 7,2% случаев.

При исследовании сердечно-сосудистой системы проводилось ЭКГ и ЭхоКГ исследование. Были выявлены следующие изменения: нормальная ЭКГ была отмечена у 50% (14) детей, явления неполной блокады правой ножки пучка Гиса у 2 (7%), нарушения реполяризации у 11 (39%), экстрасистолия у 1 (3%) ребенка. При проведении Эхо-КГ встречались следующие нарушения: аномальные хорды левого желудочка в 21 (88%) случаев, функционирующее овальное окно в 5 (20%) случаях, пролапс митрального клапана у одного ребенка. Без изменений Эхо-КГ отмечено у 2 (8%) детей.

Органы брюшной полости и пищеварительная система имели следующие особенности: при УЗИ органов брюшной полости без патологии выявлено у 13 (43,3%) детей, увеличение печени в 12 (40%) случаев, увеличение селезенки в 11 (36,7%) случаях. При бактериологическом исследовании микробиоценоза кишечника был выявлен дисбаланс нормальной микрофлоры кишечника с дефицитом лакто- и бифидофлоры и повышенным ростом условно-патогенной микрофлоры у 17 (65%) детей.

Функции органов мочевого выделения при клиническом обследовании существенно не изменялись. Лишь у 1 ребенка отмечались изменения на УЗИ органов брюшной полости в виде пиелэктазии.

Так же проводилась оценка состояния эндокринной системы путем выполнения УЗИ щитовидной железы: без патологии у 18 (60%) детей, диффузные изменения с различной степенью выраженности увеличением размеров щитовидной железы у 9 (30%) пациентов.

Все дети проходили иммунореабилитацию в отделении иммунопатологии и аллергологии ГУ «Республиканский практический центр радиационной медицины и экологии человека» г. Гомеля, включающую диетотерапию, лечебную физкультуру, массаж, поливитамины, физиолечение (биоптрон, КВЧ), санацию носоглотки, иммунотерапию, представленную следующими препаратами: виферон-1 (по схеме 1 свеча 2 раза в день 10 дней), ликопид (по 1 мг 1 раз в день 10 дней), полиоксидоний (в дозе 15 мг/кг x 1 раз в день через день 10 дней). Выписка проводилась по окончании курса иммунореабилитации.

Побочных эффектов на фоне проводимого лечения не отмечено.

Результаты и обсуждение

Как можно видеть из таблицы 1, показатели, характеризующие основные субпопуляции лимфоцитов следующие: Т-клеточное звено – количество CD3⁺ лимфоцитов у 9 (30%) детей было выше, а у 8 (26,7%) детей ниже уровня контрольной группы. Субпопуляция CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов у 10 (33,3%) детей была ниже, а у 8 (26,7%) выше уровня контрольной группы, в свою очередь, уровень CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов у 15 (50%) детей был выше, чем в контроле. В-клеточное звено (субпопуляции CD19⁺ и CD22⁺) у 9 (30%) детей имела более низкий уровень в сравнении с нормой.

Динамика относительного количества CD19⁺лимфоцитов в процессе проведения даль-

Таблица 1. Относительное содержание лимфоцитов и их субпопуляций у детей с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей в динамике

Показатели	Группа контроля (n=20) Me [LQ/UQ] в %	Опытная группа (n=30) Me [LQ/UQ] в %		
		до иммуно-реабилитации	Через 10 дней	Через 2 месяца
лимфоциты	45,25 [40,5-52,5]	47,5 [40,0-57,0]	51,0 [36,0-63,5]	47,5 [42,0-52,0]
CD3 ⁺	67,9 [65,05-72,6]	69,3 [64,6-72,9]	68,75 [65,9-71,9]	67,5 [65,1-72,7]
CD3 ⁺ CD4 ⁺	36,46 [32,1-39,45]	35,0 [31,3-42,1]	35,95 [32,1-40,5]	34,3 [30,4-38,2]
CD3 ⁺ CD8 ⁺	21,36 [20,1-23,25]	23,05 [20,1-28,6]	23,15 [20,8-28,2]	21,7 [20,0-25,6]
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,8 [1,35-2,1]	1,60 [1,2-2,0]	1,55 [1,3-1,8]	1,5 [1,3-1,7]
CD19 ⁺	17,1 [13,75-19,8]	17,15 [13,0-20,5]	18,2 [16,2-20,6]*	17,7 [14,3-19,2]**
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	11,86 [8,21-3,35]	10,7 [8,4-15,0]	10,45 [8,6-12,3]	11,1 [9,9-13,5]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	2,35 [1,75-3,25]	2,10 [1,5-2,7]	1,95 [1,4-3,1]	2,1 [1,7-3,3]
CD3 ⁻ CD4 ⁺	1,25 [0,55-2,1]	0,85 [0,6-1,2]	0,7 [0,5-1,2]	0,7 [0,6-0,9]
CD3 ⁻ CD8 ⁺	2,65 [1,9-4,05]	3,4 [2,8-4,7]	3,45 [2,6-4,0]	3,6 [2,7-4,5]
CD22 ⁺	15,35 [13,1-17,2]	16,2 [12,4-20,1]	17,0 [14,2-19,6]	15,9 [13,3-18,4]**

Примечание: * - отличия показателя от результата до иммунореабилитации с $p < 0,05$, ** - отличия показателя от результата через 10 дней после иммунореабилитации с $p < 0,05$.

нейшего обследования имело следующую тенденцию: их уровень стал выше через 10 дней после курса иммунореабилитации (18,2% [16,2%-20,6%]), чем до иммунореабилитации (17,15% [13,0%-20,5%]) ($p=0,049$). При анализе этого показателя через 2 месяца после курса лечения было отмечено снижение ($p=0,0184$) относительного количества CD19⁺ лимфоцитов, выявленного через 10 дней после иммунореабилитации (рисунок 1).

Уровень CD22⁺ лимфоцитов снизился через 2 месяца после иммунореабилитации по сравнению с их уровнем через 10 дней после её проведения: 15,9 [13,3-18,4] и 17,0 [14,2-19,6] соответственно ($p=0,0461$).

Снижение относительных показателей CD19⁺ и CD22⁺ через 2 месяца после курса иммунореабилитации свидетельствует о необходимости мониторинга иммунного статуса и решения вопроса о повторном противорецидивном курсе не позднее 2 месяцев.

При обследовании детей с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей уровень субпопуляций лимфоцитов, несущих на поверхности рецептор HLA-DR (CD3⁺HLA-DR⁺ и CD3⁻HLA-DR⁺) был ниже контрольной группы у 9 (30%) и 11 (36,7%) детей соответственно. Результаты исследований других авторов при изучении иммунного статуса часто и длительно болеющих детей раннего возраста с бронхиальной астмой также демонстрируют снижение экспрессии антигенов гистосовместимости II класса (HLA-DR), ассоциирующихся с Т-клеточной активацией и выполняющих функцию презентации антигена CD4⁺ клеткам [16].

Анализ экспрессии маркеров активации в динамике HLA-DR выявил разные характерные изменения в Т- и В-клеточном звеньях иммунитета: через 10 дней после проведения иммунореабилитации уровень CD3⁻HLA-DR⁺ стал статистически значимо выше ($p=0,047$), чем до курса лечения:

18,4% [17,2%-20,6%] и 17,4% [13,6%-20,8%] соответственно, а через 2 месяца (таблица 2) снизился ($p=0,0184$) (17,8% [15,4%-19,6%]) по сравнению с уровнем через 10 дней после курса реабилитации.

Уровень $CD3^+HLA-DR^+$ лимфоцитов оставался без каких-либо значимых изменений через 10 дней, но через 2 месяца значительно ($p=0,0366$) стал более высоким, чем через 10

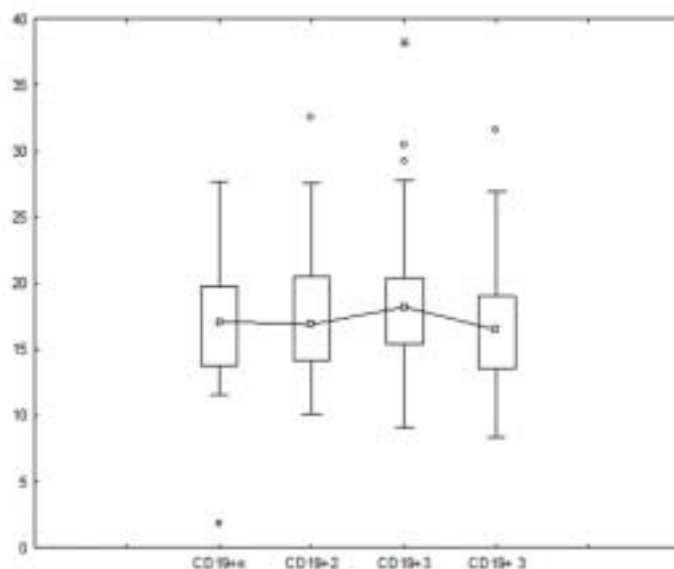


Рис. 1. Динамика относительных значений $CD19^+$ (Me [25%-75%]).

Примечание: $CD19^+ к$ – контрольная группа; $CD19^+1$ - до иммунореабилитации; $CD19^+2$ – 10 дней после иммунореабилитации; $CD19^+3$ – 2 месяца после иммунореабилитации.

Таблица 2. Динамика содержания субпопуляций лейкоцитов и лимфоцитов у детей с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей, экспрессирующие рецепторы активации и апоптоза

Показатели	Me [LQ/UQ] в %			
	Группа контроля (n=20)	Опытная группа (n=30) до иммуно-реабилитации	Через 10 дней	Через 2 месяца
$CD3^+HLA-DR^+$	1,8[1,3-3,3]	1,60[1,2-2,3]	1,75[1,2-2,1]	2,2[1,4-2,9]***
$CD3^+CD4^+CD25^+$	5,5[4,65-7,7]	4,80[3,4-6,3]	5,90[3,9-8,6]	6,0[3,6-7,5]
$CD3^+HLA-DR^+$	17,5[14,35-19,8]	17,4[13,6-20,8]	18,48 [17,2-20,6]**	17,8[15,4-19,6]***
$CD3^+CD95^+$	16,3[14,0-20,0]	15,35[5,9-19,5]	15,45[9,9-19,5]	16,5[12,2-19,5]
$CD3^+CD4^+CD95^+$	10,6[8,3-14,2]	8,3[4,1-10,5]	7,8[5,7-10,4]	10,3[5,1-12,1]
$CD71^+$	2,1[1,7-3,15]	2,1[1,1-3,2]	1,9[1,3-3,3]	2,7[1,6-3,3]
$CD40^+$	20,1[16,8-21,9]	18,35[14,4-23,4]	20,2[17,3-22,4]	19,5[16,6-21,4]
$CD154^+$ отн х %	11,4[5,75-18,0]	4,40[1,9-9,2]*	6,15[3,6-14,3]	10,2[5,8-15,4]**
абс х 10^9 кл/л	0,4 [0,23-0,54]	0,15[0,08-0,28]*	0,21[0,11-0,45]	0,52*, **[0,33-1,4]***
$CD3^+CD28^+$	58,6 [52,2-64,0]	58,7[55,6-67,2]	61,0[56,5-64,4]	58,8[54,6-63,8]
$CD3^+CD8^+CD28^+$	23,8[17,45-30,8]	28,75[26,0-32,8]*	28,35 [25,4-32,9]*	26,1 [22,8-30,4]

Примечание: * - отличия показателя от контроля с $p<0,05$, ** - отличия показателя от результата до иммунореабилитации с $p<0,05$, *** - отличия показателя от результата через 10 дней после иммунореабилитации с $p<0,05$.

дней после курса лечения (2,2% [1,4%-2,9%] и 1,75% [1,2%-2,1%] соответственно).

Относительные значения показателя $CD3^+CD8^+CD28^+$, отражающим активацию иммунной системы и отвечающего за межклеточное взаимодействие, до проведения иммунореабилитации были выше у 9 (30%) детей ($p=0,01$) и через 10 дней после неё статистически значимо ($p=0,018$) сохранялся более высоким чем в контрольной группе. Через 2 месяца после курса иммунореабилитации уровень данных клеток от контроля значимо не отличался (таблица 2). В исследованиях зарубежных авторов также было выявлено, что относительное количество $CD3^+CD8^+$ Т-лимфоцитов у детей (в возрасте 2-6 лет) с частыми инфекциями верхних дыхательных путей выше, чем в контрольной группе. Данные клеточные иммунные изменения являются признаком антигенного возбуждения; однако не являются эффективными в управлении патологическим процессом [17].

Клиническая значимость определения субпопуляции $CD28^+$ Т-клеток состоит в том, что по их количеству можно предсказать эффективность взаимодействия между Т- и В-клетками при развитии иммунного ответа (продукция антител) на многие тимусзависимые бактериальные и вирусные антигены. Экспрессия $CD28$ не является статическим процессом и уровень ее в значительной степени повышается при активации Т-клеток [17]. В работах неко-

торых авторов было продемонстрировано, что $CD8^+CD28^+$ Т-лимфоциты представляют уникальную субпопуляцию регулирующих клеток, которая вызывает дифференцировку толерогенных антигенпредставляющих клеток, инициируя подавляющую петлю, которая заканчивается индукцией и распространением иммунологической толерантности Т-хелперов и замедление их функциональных способностей [18]. Избыточная активация субпопуляции $CD3^+CD8^+CD28^+$ Т-лимфоцитов может свидетельствовать о повышенной супрессии иммунного ответа в группе часто болеющих детей и является необходимым компонентом иммунологического обследования детей из указанной диспансерной группы.

При изучении динамики субпопуляции $CD154^+$ лимфоцитов было отмечено, что как относительное так и абсолютное её количество (таблица 2) имело более низкий уровень в группе до иммунореабилитации у 20 (66,7%) детей по сравнению с контролем ($p=0,002$ и $p=0,003$ соответственно). После курса иммунореабилитации динамика данного показателя была положительная и через 2 месяца после проведенного курса и относительный ($p=0,000318$) (рисунок 2) и абсолютный ($p=0,000318$) уровень $CD154^+$ субпопуляции лимфоцитов стал выше чем до проведенного курса.

Хорошо известно, что взаимодействие между молекулами $CD40$ - $CD40L$ ($CD154^+$) на лимфоцитах очень важно для активации и диффе-

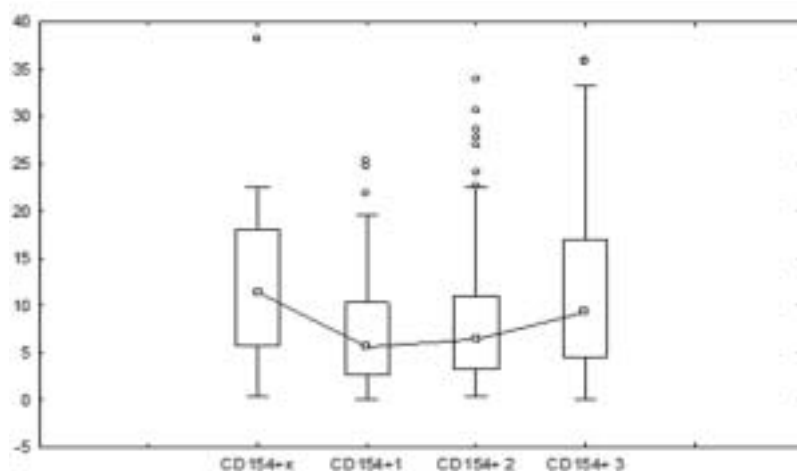


Рис. 2. Динамика относительных значений $CD154^+$ (Me [25%-75%]).

Примечание: $CD154^+$ к – контрольная группа; $CD154^+1$ – до иммунореабилитации; $CD154^+2$ – 10 дней после иммунореабилитации; $CD154^+3$ – 2 месяца после иммунореабилитации.

ренцировки как В-лимфоцитов, так и Т-лимфоцитов. Вследствие дефицита CD40-L могут быть нарушены и способность В-лимфоцитов к изотипическому переключению классов иммуноглобулинов и способность Т-клеток к дифференцировке в Т-хелперы 1 типа. Более того, отсутствие взаимодействия CD40 - CD40L может приводить к преимущественно непрофессиональному представлению антигенов Т-лимфоцитам, так как нарушается экспрессия В-7 молекул на антиген-презентирующих клетках [20, 21, 22, 23].

При анализе гуморального иммунитета и фагоцитоза (табл. 3) наблюдалось только изменение уровня IgA: через 10 дней после иммунореабилитации уровень IgA был статистически значимо ($p=0,0495$) выше, чем до иммунореабилитации, но через 2 месяца отмечалось его снижение относительно исходного уровня ($p=0,0013$), что так же подтверждает необходимость контрольного иммунологического обследования и решения вопроса о проведении повторного курса иммунореабилитации через 2 месяца. Отмечалось снижение IgM (0,95 г/л [0,75-1,28 г/л] через 10 дней после курса иммунореабилитации по сравнению с показателями до лечения (0,82 г/л [0,59-1,23 г/л] ($p=0,0368$).

В целом, увеличение уровня CD154⁺ лимфоцитов, необходимых для переключения синтеза классов иммуноглобулинов, увеличение уровня IgA и снижение уровня IgM через 10 дней после курса иммунореабилитации свидетельствует об улучшении способности к переключению клас-

сов иммуноглобулинов, следующему за взаимодействием CD40⁺ и CD154⁺ субпопуляций лимфоцитов необходимого для полноценного иммунного ответа.

Изучив динамику относительного количества лейкоцитов, экспрессирующих рецепторы адгезии, мы выявили, что на протяжении всех этапов обследования относительный уровень нейтрофилов, несущих CD18 рецептор до проведения иммунореабилитации был выше показателя контрольной группы у 24 (80%) детей и сохранялся более высоким на протяжении всех этапов иммунологического обследования ($p=0,0003$, $p=0,0097$, $p=0,019$ соответственно). При этом уровень CD11a⁺ нейтрофилов был выше чем в контроле до иммунореабилитации у 20 (66,7%) детей ($p=0,02$), а через 10 дней и 2 месяца после иммунореабилитации статистически значимых различий с контролем не наблюдалось.

Выявленные изменения схожи с данными полученными при изучении растворимых форм молекул адгезии (LFA-1, ICAM-1/2/3) при тяжелой и среднетяжелой бронхиальной астме у детей, возрастающих при снижении контроля над течением астмы и с длительностью болезни [10, 24].

По-видимому, повышенная экспрессия молекул адгезии у исследуемой группы по сравнению с контролем свидетельствует о более высоком уровне активационных процессов на фоне отсутствия клинической манифестации. Безусловно, поддержание высокого уровня актив-

Таблица 3. Показатели гуморального иммунитета и фагоцитоза у детей с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей

Показатели	Me [LQ/UQ]			
	Группа контроля (n=20)	Опытная группа (n=30)		
		до иммуно-реабилитации	Через 10 дней	Через 2 месяца
ЦИК	30,0 [22,0-40,4]	29,5 [12,0-54,0]	28,0 [19,0-46,0]	39,0 [26,0-56,0]
IgG	9,29 [6,74-9,95]	8,59 [7,05-10,23]	7,77 [6,99-9,85]	8,62 [7,63-9,37]
IgA	0,8 [0,58-1,08]	0,82 [0,59-1,23]	0,90 [0,43-1,21]*	0,76 [0,35-1,18]*
IgM	1,12 [0,83-1,33]	1,02 [0,9-1,44]	0,95 [0,75-1,28]*	1,09 [0,73-1,52]
IgE	24,2 [2,6-76,5]	24,3 [0,8-81,1]	26,2 [6,9-99,3]	27,1 [0,8-87,9]
С3	1,14 [1,06-1,19]	1,1 [1,04-1,24]	1,09 [0,91-1,28]	1,09 [0,95-1,21]
С4	0,23 [0,21-0,27]	0,25 [0,2-0,28]	0,22 [0,16-0,33]	0,23 [0,19-0,3]
ФИ	68,0 [57,0-77,0]	69,5 [59,0-84,0]	71,0 [56,0-81,0]	69,0 [55,0-76,0]
ФЧ	6,0 [5,0-8,0]	6,0 [5,0-8,0]	6,5 [5,0-8,0]	7,0 [5,0-8,0]

Примечание: * - отличия показателя от результата до иммунореабилитации с $p < 0,05$.

ности иммунокомпетентных клеток не может продолжаться бесконечно долго и снижение их функциональной активности должно приводить к повторному возникновению заболевания.

Динамика CD11a⁺ лимфоцитов была в течение всех этапов обследования следующая: через 10 дней показатель стал выше чем при первичном обследовании, а через 2 месяца статистически значимо повысился как в сравнении с контролем ($p=0,039$), так и с уровнем до иммунореабилитации ($p=0,0289$) (таблица 4).

ЛПС - связывающая способность лимфоцитов является интегральным показателем состояния защиты системы иммунитета от бактериальной инфекции и может служить показателем работы состояния системы иммунитета [25, 26, 27].

Одинаково проявили относительные и абсолютные экспрессии количества рецепторов ЛПС на Т-лимфоцитах (LPS⁺CD3⁺) и В-лимфоцитах (LPS⁺CD19⁺). При первоначальном обследовании детей с рецидивирующими ин-

фекциями верхних дыхательных путей в период ремиссии у 15 (50%) детей их уровни были ниже чем в контрольной группе. В других исследованиях, в остром периоде заболеваний, ассоциированных с инфекцией, также характерно было их снижение до 30–36%, которое в периоде реконвалесценции возвращалось к норме. При рецидивирующих тяжелых гнойно-септических заболеваниях снижение достигало 22–30% и длительно сохраняется в периоде ремиссии [10].

После проведения курса иммунореабилитации, относительные и абсолютные уровни субпопуляций лимфоцитов LPS⁺CD19⁺ и LPS⁺CD3⁺ сохранялись ниже контрольного уровня, но через 2 месяца их количество стало выше, чем до иммунореабилитации (не имели достоверных отличий от контроля), а относительное количество LPS⁺CD19⁺ лимфоцитов через 2 месяца стало статистически значимо выше по сравнению с их количеством через 10

Таблица 4. Показатели содержания субпопуляций лейкоцитов и лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы адгезии и ЛПС у детей с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей

Показатели	Me[LQ/UQ] в %				
	Группа контроля (n=20)	Опытная группа (n=30) до иммуно-реабилитации	Через 10 дней	Через 2 месяца	
нейтрофилы	CD18 ⁺	99,15 [98,75-99,5]	99,7 [99,2-99,9]*	99,8 [98,7-99,9]*	99,6 [98,9-99,8]*
	CD11a ⁺	98,75 [97,85-99,25]	99,70 [99,3-100,0]*	99,25 [98,8-99,8]	99,6 [98,9-99,8]
моноциты	CD18 ⁺	95,1 [91,25-96,6]	95,3 [92,1-97,7]	94,35 [91,7-97,6]	94,9 [93,4-96,5]
	CD11a ⁺	97,4 [95,5-98,3]	97,40 [93,9-98,7]	96,85 [94,9-99,2]	95,8 [94,2-99,0]
лимфоциты	CD18 ⁺	43,5 [34,6-50,4]	46,1 [40,2-54,4]	42,65 [36,5-47,7]	41,2 [36,5-46,8]
	CD11a ⁺	98,6 [96,45-99,0]	98,3 [97,9-99,5]	98,75 [98,0-99,0]	99,1* [98,7-99,5]**
LPS ⁺ CD19 ⁺ отн х %	0,4 [0,25-0,45]	0,2 [0,1-0,4]	0,2 [0,1-0,3]*	0,3 [0,1-0,6]***	
	абсх10 ⁹ кл/л	0,01 [0,01-0,019]	0,01 [0,004-0,02]	0,006 [0,006-0,01]*	0,01 [0,01-0,02]
LPS ⁺ CD3 ⁺ отн х %	1,1 [0,9-1,6]	0,85 [0,5-1,35]	0,65 [0,3-1,2]*	0,9 [0,5-1,7]	
	абсх10 ⁹ кл/л	0,04 [0,03-0,06]	0,03 [0,02-0,06]	0,02 [0,01-0,04]*	0,04 [0,02-0,06]

Примечание: * - отличия показателя от контроля с $p<0,05$, ** - отличия показателя от результата через 10 дней после иммунореабилитации с $p<0,05$, *** - отличия показателя от результата через 10 дней после иммунореабилитации с $p<0,05$.

дней после курса после иммунореабилитации ($p=0,0321$), что может свидетельствовать о повышении ЛПС-связывающей способности Т- и В-лимфоцитов не ранее чем через 2 месяца после проведенного курса лечения.

Выводы

1. У детей в возрасте 2-6 лет с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей в период ремиссии повышен относительный уровень нейтрофилов, экспрессирующих рецепторы адгезии CD18⁺ ($p=0,0003$) и CD11a⁺ ($p=0,02$) и CD3⁺CD8⁺CD28⁺-лимфоцитов ($p=0,01$), по сравнению со здоровыми детьми, что указывает на избыточную активацию иммунной системы даже в период клинического благополучия.
2. При мониторинге иммунного статуса после проведения курса иммунореабилитации, уровни CD11a⁺ нейтрофилов и субпопуляция CD3⁺CD8⁺CD28⁺-лимфоцитов, LPS⁺CD19⁺, CD154⁺лимфоцитов, через 2 месяца статистически значимо от контроля не отличались, что, возможно, свидетельствует об уменьшении хронической антигенной стимуляции и восстановление функциональных возможностей иммунной системы.
3. Относительный уровень субпопуляции LPS⁺CD19⁺ через 2 месяца после проведенного курса иммунореабилитации стал статистически значимо ($p=0,0321$) выше, чем в группах до иммунореабилитации и статистически достоверно не отличим от группы контроля - это свидетельствует о повышении ЛПС-связывающей способности В-лимфоцитов, необходимой для полноценной защиты системы иммунитета от бактериальной инфекции.
4. Выявлено снижение относительного ($p=0,002$) и абсолютного ($p=0,003$) количества CD154⁺лимфоцитов в исследуемой группе по сравнению с контролем. На фоне проведения иммунореабилитационной терапии уровень субпопуляции CD154⁺ стал выше: через 10 дней не имел статистически достоверных значимых отличий от контроля, а через 2 месяца как относительное ($p=0,000318$), так и абсолютное ($p=0,00032$) количество CD154⁺лимфоцитов стало выше, чем до иммунореабилитации, что свидетельствует об улучшении способности иммунной системы к переключению классов иммуноглобулинов, следующему за связыванием CD40 - CD40L (CD154).
5. Выявление доклинических (лабораторных) вариантов нарушений иммунореактивности при рецидивирующих респираторных заболеваниях у детей позволит более дифференцированно подходить к их иммунореабилитации с целью профилактики рецидивов.

Литература

1. Горенькова А.В. Клинико-иммунологические особенности часто болеющих детей на Европейском севере: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09.- Архангельск, 1999.-25с.
2. Камашева Г.Т. Клинико-иммунологическая характеристика часто болеющих детей г. Семей: автореф. диссер. ...кандид.мед.наук:14.00.09, Казахстан, 2009 г.- с.22.
3. Коровина Н.А., Заплатников А.Л., Чебуркин А.В., Захарова И.Н. Часто и длительно болеющие дети: современные возможности иммунореабилитации (руководство для врачей). - М., 2001.
4. Маркова Т.П., Чувиров Д.Г. Длительно и часто болеющие дети. Рус.мед.журнал.- 2002.- Т.10, № 3.
5. Новиков Д.К. Новиков П.Д. Клиническая иммунопатология. Москва, 2009: 448 с.
6. Порядин Г.В., Салмаси Ж.В., Казимирский А.Н. Активационные маркеры лимфоцитов как показатели дисрегуляции иммунной системы при воспалении. Патология физиология и эксперимент. терапия.- 2006.- № 1.- с. 2-7.
7. Рагозина В.Н. Эффективность иммунокорректирующих препаратов в реабилитации часто болеющих детей организованных коллективов : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09. -Волгоград, 2007: 24 с.
8. Таточенко В.К. Практическая пульмонология детского возраста: Справочник. - М.: Медицина, 2001.
9. Ярцев М.Н., Яковлева К.П., Плахтиенко М.В. Иммунная недостаточность и часто боллеющие дети. Педиатрия (приложение к журналу Consilium Medicum) 2006; №1: 13-18.
10. Максимова А.В., Кубышева Н.И., Ермолаева Е.В. и др. Сывороточное содержание растворимых антигенов адгезии и молекул гистосовместимости у детей с бронхиальной астмой. Аллергология 2005; №4: 30-34.
11. Aghamohammadi A., Moin M., Karimi A., Naraghi M., Zandieh F., Isaeian A., Tahaei A., Talaei-Khoei M., Kouhi A., Abdollahzade S., Pouladi N., Heidari G., Amirzargar A.A., Rezaei N., Sazgar A.A. Immunologic evaluation of patients with recurrent ear, nose, and throat infections. Am J Otolaryngol 2008 Nov-Dec; 29(6): 385-92. Epub 2008 Jun 16.
12. Kainulainen L., Peltola V., Seppänen M., Viander M., He Q., Lokki M.L., Ruuskanen O. C4A deficiency in children and adolescents with recurrent respiratory infections. Hum Immunol. 2012, Feb 26.
13. Хаитов Р.М. Оценка иммунного статуса человека в норме и при патологии / Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммунология. 2001; № 4: 4-6.

14. Ярилин А.А. Симбиотические взаимодействия клеток иммунной системы. Иммунология 2001; №4: 16-20.
15. Халафян А.А. Статистический анализ данных. М., 2006.
16. Котлуков В.К., Кузьменко Л.Г., Блохин Б.М. и др. Особенности иммунного статуса часто и длительно болеющих детей раннего возраста с бронхиальной астмой. Педиатрия 2007; №86 (4): 25-29.]
17. Чередеев А.Н., Горлина Н. К., Козлов И.Г. CD-маркеры в практике клинико-диагностических лабораторий. Клиническая лабораторная диагностика 1999; №6: 25-32.
18. Cortesini R., LeMaout J., Ciubotariu R., Cortesini N.S. CD8+CD28- T suppressor cells and the induction of antigen-specific, antigen-presenting cell-mediated suppression of Th reactivity. Immunol Rev. 2001; Aug. 182: P. 201-6.
19. Chatzigeorgiou A., Lyberi M., Chatzilympiris G., Nezos A., Kamper E. CD40/CD40L signaling and its implication in health and disease. Biofactors 2009; Nov-Dec; 35(6): 474-483.
20. Elgueta R, Benson MJ, de Vries VC, Wasiuk A, Guo Y, Noelle R. Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system. J. Immunol Rev. 2009; May; 229(1): 152-72.
21. Kawabe T, Matsushima M, Hashimoto N, Imaizumi K, Hasegawa Y. CD40/CD40 ligand interactions in immune responses and pulmonary immunity Nagoya J Med Sci. 2011; Aug; 73(3-4): 69-78.
22. Schüßbeck U, Libby P. The CD40/CD154 receptor/ligand dyad. Cell Mol Life Sci. 2001 Jan; 58(1): 4-43.
23. Yang Y., Wilson J.M. CD40 ligand-dependent T cell activation: requirement of B7-CD28 signalling through CD40. Science 1996; 273: 1862-4.
24. Hamzaoui A., Ammar J., Mekki Fet al. Elevation of serum soluble E-selection and VCAM-1 in sever asthma. Mediat.Inflamm.. 2001; Vol.10. №6: 339-342.
25. Donna M., Ambrosino G., Siber R. An immunodeficiency characterized by impaired antibody response to polysaccharides. N. Engl. J. Med. 1987; Vol.316; №13: 790-793.
26. Rabin R.L., Bieber M.M., Teng N.N.H. Lipopolysaccharide and peptidoglycan share binding sites on human peripheral blood monocytes. J. Infect. Dis. 1993; 168: 135-142.
27. Qing G., Howlett S., Bortolussi R. Lipopolysaccharide Binding proteins on polymorphonuclear leukocytes comparison of adult and neonatal cells. Infect. Immune. 1996; Vol. 64; №11: 4638-4642.)

Сведения об авторах:

Зыблева Светлана Валерьевна, врач-иммунолог

246000 Беларусь, Гомель, ул. Ильича, 290. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, отделение иммунопатологии и аллергологии

Тел.: (80232) 38-97-08, факс (80232-37-80-97), E-mail: zyb-svetlana@yandex.ru

Новиков Павел Дмитриевич, д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ВГМУ
210023 Витебск, пр. Фрунзе 27, Тел.: (80232) 22-53-80

Поступила 22.11.2012 г.