



УДК 616.24-002: 616.155.194: 612.392.4: 612.017.1

СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНЬЕВ ИММУНИТЕТА ПРИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ У ДЕТЕЙ ПРЕДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА

Т. А. РОМАНОВА¹
А. И. СМЯНА²
К. И. ВАСИЛИШИН²
Т. П. БЫНДА²
В. А. СУХАРЕВА²

¹*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

²*Сумский государственный
университет, Украина*

e-mail: smiyana@ukr.net

Целью исследования было изучение особенностей иммунного статуса на основе анализа клеточного и гуморального звеньев иммунитета у детей дошкольного возраста с внебольничной пневмонией, ассоциированной с железодефицитной анемией.

Нами обследовано 50 детей в возрасте от одного до трех лет. Изучение иммунного статуса пациентов проводили путем определения фагоцитарного индекса, содержания лимфоцитов, CD3+ (Т-лимфоцитов), CD4+ (Т-хелперов), CD8+ (Т-супрессоров), CD16+ (нулевых клеток), CD22+ (В-лимфоцитов) в сыворотке крови методом иммунофлюоресценции с моноклональными антителами и уровень иммуноглобулинов классов А, G, М методом радиальной иммунодиффузии в агаре по Mancini G. et al. в динамике лечения: 1–3-и сутки после госпитализации и в период стабильного улучшения общего состояния (12–14-й день).

Установлено, что острый период заболевания характеризуется нарушениями в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета, которые более выражены у пациентов с сопутствующей железодефицитной анемией. После проведенного лечения отмечается положительная динамика показателей как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета, хотя нормализации их не происходит.

Ключевые слова: пневмония, дети, иммунитет.

Болезни органов дыхания, по данным официальной статистики, в структуре заболеваемости детского населения занимают первое место и составляют около 62–65%. Пневмония является одной из самых распространенных болезней современного общества. Согласно данным ВОЗ и ЮНИСЕФ пневмония является первой по значимости причиной смерти детей в мире – ежегодно она уносит жизни 1,8 миллионов детей в возрасте до 5 лет, что составляет 18 % всех случаев смерти в этом возрасте [1, 2]. Среди предикторов возникновения пневмонии значительное место занимают вторичные иммунодефицитные состояния. Как известно, возрастная незрелость специфической и неспецифической иммунологической защиты ребенка первых лет жизни проявляется более легким возникновением инфекционного заболевания, более тяжелым его течением, значительным риском развития осложнений и генерализации инфекции [3, 4].

Принимая во внимание, что железодефицитная анемия рассматривается как фоновое состояние, которое вызывает более высокую инфекционную заболеваемость, можно рассматривать дефицит железа как один из патогенетических факторов развития иммунодефицита. Известно, что ионы железа непосредственно принимают участие в работе механизмов, регулирующих митотическую активность и дифференцировку Т-клеток, фагоцитоз, поддержании бактерицидной способности сыворотки, а дефицит железа в организме приводит к значительному нарушению клеточного иммунитета [4, 5, 6]. Недостаточное поступление данного микроэлемента в организм ребенка сопровождается снижением активности натуральных киллеров, нейтрофилов, недостаточной продукцией миелопероксидазы, синтеза sIgA и IgG, а также неэффективной и неадекватной уровню стимуляции продукцией ряда цитокинов [6, 7].

Именно поэтому поиск новых критериев, определяющих степень и характер иммунологического ответа при внебольничной пневмонии (ВП), ассоциированной с железодефицитной анемией (ЖДА) у детей дошкольного возраста является актуальным и одним из приоритетных направлений научных исследований в педиатрии.

Целью исследования было изучение особенностей иммунного статуса на основе анализа клеточного и гуморального звеньев иммунитета у детей дошкольного возраста с внебольничной пневмонией, ассоциированной с железодефицитной анемией.

Материалы и методы исследования. Нами обследовано 50 детей в возрасте от одного до трех лет, находившихся на лечении в инфекционном отделении № 1 Сумской городской детской клинической больницы Св. Зинаиды по поводу ВП за период с 2011 по 2013 годы. Всех пациентов было разделено на две группы. В I группу вошли 15 детей с ВП без ЖДА. Во II группу



были включены 15 больных с ВП, ассоциированной с ЖДА легкой степени. Группу контроля составили 20 практически здоровых детей соответствующего возраста и пола.

Изучение иммунного статуса пациентов проводили путем определения фагоцитарного индекса, содержания лимфоцитов, CD3+ (Т-лимфоцитов), CD4+ (Т-хелперов), CD8+ (Т-супрессоров), CD16+ (нулевых клеток), CD22+ (В-лимфоцитов) в сыворотке крови методом иммунофлюоресценции с моноклональными антителами [8] и уровень иммуноглобулинов классов А, G, М методом радиальной иммунодиффузии в агаре по Mancini G. et al. [9] в динамике заболевания: 1–3-и сутки после госпитализации и в период стабильного улучшения общего состояния (12–14-й день).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью стандартной статистической компьютерной системы "Microsoft Excel", адаптированной к медико-биологическим исследованиям с использованием критерия Стьюдента (t) для оценки достоверности разности абсолютных значений средних величин. При $t = 1,96$, $p < 0,05$ – разница между показателями значима.

Результаты исследований и их обсуждение. При исследовании клеточного звена иммунитета у детей с ВП выявлены значительные нарушения иммунного статуса в начале заболевания по сравнению с аналогичными показателями практически здоровых детей. Данные изменения проявлялись угнетением активности Т-клеточного звена иммунитета, фагоцитоза и нарушением деятельности В-клеточного звена (табл. 1).

Таблица 1

Динамика показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета при внебольничных пневмониях у детей в зависимости от наличия железодефицитной анемии

Иммунологические показатели	Практически здоровые дети (n=20)	Группа I (n=15)		Группа II (n=15)	
		в начале лечения	в конце лечения	в начале лечения	в конце лечения
1	2	3	4	5	6
Лимфоциты, %	59,23 ± 2,17	41,37 ± 1,24 P ₂₋₃ < 0,001	53,61 ± 1,81 P ₂₋₄ > 0,05 P ₃₋₄ < 0,001	36,82 ± 1,08 P ₂₋₅ < 0,001 P ₃₋₅ < 0,01	43,82 ± 1,93 P ₂₋₆ < 0,001 P ₅₋₆ < 0,01
CD3+ (Т-лимфоциты), %	55,24 ± 2,07	49,80 ± 1,03 P ₂₋₃ < 0,05	51,93 ± 0,89 P ₂₋₄ > 0,05 P ₃₋₄ > 0,05	40,60 ± 1,22 P ₂₋₅ < 0,001 P ₃₋₅ < 0,001	45,40 ± 2,23 P ₂₋₆ < 0,01 P ₅₋₆ < 0,05
CD4+ (Т-хелперы), %	37,93 ± 1,12	26,80 ± 0,86 P ₂₋₃ < 0,001	31,93 ± 0,75 P ₂₋₄ < 0,001 P ₃₋₄ < 0,001	22,53 ± 1,45 P ₂₋₅ < 0,001 P ₃₋₅ < 0,001	25,86 ± 0,98 P ₂₋₆ < 0,001 P ₅₋₆ > 0,05
CD8+ (Т-супрессоры), %	22,53 ± 0,78	21,47 ± 1,03 P ₂₋₃ > 0,05	22,08 ± 0,84 P ₂₋₄ > 0,05 P ₃₋₄ > 0,05	18,72 ± 0,69 P ₂₋₅ < 0,01 P ₃₋₅ > 0,05	20,06 ± 0,63 P ₂₋₆ < 0,05 P ₅₋₆ > 0,05
CD16+ (Нулевые клетки), %	13,13 ± 0,73	11,22 ± 0,57 P ₂₋₃ < 0,05	13,06 ± 0,66 P ₂₋₄ > 0,05 P ₃₋₄ > 0,05	10,20 ± 0,54 P ₂₋₅ < 0,01 P ₃₋₅ > 0,05	11,33 ± 0,61 P ₂₋₆ > 0,05 P ₅₋₆ > 0,05
CD22+ (В-лимфоциты), %	20,33 ± 0,75	19,58 ± 0,54 P ₂₋₃ > 0,05	20,27 ± 0,56 P ₂₋₄ > 0,05 P ₃₋₄ > 0,05	17,98 ± 0,39 P ₂₋₅ < 0,01 P ₃₋₅ < 0,05	18,73 ± 0,73 P ₂₋₆ > 0,05 P ₅₋₆ > 0,05
Фагоцитарный индекс, %	57,20 ± 1,33	42,53 ± 0,90 P ₂₋₃ < 0,001	46,80 ± 1,76 P ₂₋₄ < 0,001 P ₃₋₄ < 0,05	39,0 ± 0,95 P ₂₋₅ < 0,001 P ₃₋₅ < 0,05	43,33 ± 1,83 P ₂₋₆ < 0,001 P ₅₋₆ < 0,05
Ig G, г/л	8,83 ± 0,97	8,04 ± 0,99 P ₂₋₃ > 0,05	10,96 ± 1,02 P ₂₋₄ > 0,05 P ₃₋₄ < 0,05	5,01 ± 0,61 P ₂₋₅ < 0,01 P ₃₋₅ < 0,05	6,43 ± 0,63 P ₂₋₆ < 0,05 P ₅₋₆ > 0,05
Ig A, г/л	0,96 ± 0,1	1,04 ± 0,13 P ₂₋₃ > 0,05	1,13 ± 0,12 P ₂₋₄ > 0,05 P ₃₋₄ > 0,05	0,70 ± 0,09 P ₂₋₅ > 0,05 P ₃₋₅ < 0,05	0,86 ± 0,11 P ₂₋₆ > 0,05 P ₅₋₆ > 0,05
Ig M, г/л	1,10 ± 0,08	1,63 ± 0,13 P ₂₋₃ < 0,01	1,26 ± 0,11 P ₂₋₄ > 0,05 P ₃₋₄ < 0,05	1,42 ± 0,10 P ₂₋₅ < 0,05 P ₃₋₅ > 0,05	1,13 ± 0,09 P ₂₋₆ > 0,05 P ₅₋₆ < 0,05

Примечание: P₂₋₃ – разница между показателями детей группы контроля и I группы в начале лечения; P₂₋₄ – разница между показателями детей группы контроля и I группы в конце лечения; P₃₋₄ – разница между показателями детей I группы в начале и в конце лечения; P₂₋₅ – разница между показателями детей группы контроля и II группы в начале лечения; P₃₋₅ – разница между показателями детей I и II групп в начале лечения; P₂₋₆ – разница между показателями детей группы контроля и II группы в конце лечения; P₅₋₆ – разница между показателями детей II группы в начале и в конце лечения.

При анализе показателей иммунитета у детей с ВП без ЖДА в начале заболевания установлено достоверное снижение фагоцитарного индекса ($42,53 \pm 0,90\%$, $p < 0,001$), количества лимфоцитов ($41,37 \pm 1,24\%$, $p < 0,001$), CD3+ ($49,8 \pm 1,03\%$, $p < 0,05$), CD4+ ($26,8 \pm 0,86\%$, $p < 0,001$) и CD16+ ($11,22 \pm 0,57\%$, $p < 0,05$) по сравнению с данными показателями у практически здоровых детей.

В острый период заболевания, у детей, больных ВП с ЖДА, выявилось значительное снижение фагоцитарного индекса ($39,0 \pm 0,95\%$, $p < 0,001$), уровня лимфоцитов ($36,82 \pm 1,08\%$, $p < 0,001$), CD3+ ($40,6 \pm 1,22\%$, $p < 0,001$), CD4+ ($22,5 \pm 1,45\%$, $p < 0,001$), CD8+ ($18,72 \pm 0,69\%$, $p < 0,01$), CD16+ ($10,20 \pm 0,54\%$, $p < 0,01$) и CD22+ ($17,98 \pm 0,39\%$, $p < 0,01$) по сравнению с данными детей контрольной группы. Полученные результаты иммунного статуса соответствуют данным других исследователей [6, 7].

При сравнении полученных данных детей I и II групп в начале заболевания, установлено, что в сыворотке крови больных с ВП с ЖДА наблюдались достоверно более низкие показатели фагоцитарного индекса ($p < 0,05$), лимфоцитов ($p < 0,01$), CD3+ ($p < 0,001$), CD4+ ($p < 0,001$), CD22+ ($p < 0,05$) против соответствующих показателей у детей с ВП без ЖДА.

В гуморальном звене иммунитета у пациентов обеих групп в начале заболевания установлено достоверное повышение уровня Ig M, тогда как содержание Ig A не отличалось от данных детей группы контроля. У пациентов с ВП без ЖДА содержание Ig G не отличалось от аналогичного показателя практически здоровых детей. Вместе с тем, у детей, больных ВП с ЖДА наблюдалось достоверное снижение его концентрации по сравнению с показателем детей группы контроля (табл.1).

Уровень Ig M у детей I группы в острый период достоверно повышался и составлял $1,63 \pm 0,17$ г/л по сравнению с $1,10 \pm 0,08$ г/л в группе детей без патологии ($p < 0,01$).

У детей II группы в начале заболевания отмечалось достоверное снижение концентрации Ig G ($5,01 \pm 0,61$ г/л, $p < 0,01$) и повышение содержания Ig M ($1,42 \pm 0,11$ г/л, $p < 0,05$) по сравнению с данными практически здоровых детей.

При сравнении вышеуказанных показателей детей II группы с данными больных I группы установлено достоверное снижение уровня Ig G ($p < 0,05$) и Ig A ($p < 0,05$).

Таким образом, в остром периоде заболевания наблюдается значительный дисбаланс фагоцитоза, Т- и В- звеньев иммунитета, причем более значительный у детей, больных ВП с ЖДА.

Такие изменения, возможно, свидетельствуют о существенном нарушении иммунологической реактивности у детей с ВП, ассоциированной с ЖДА. Одним из механизмов влияния дефицита железа на иммунитет является снижение активности железосодержащих ферментов. Недостаточность данного биометалла снижает активность рибонуклеотид – редуктазы и соответственно синтез ДНК, что приводит к уменьшению скорости клеточной пролиферации, происходит угнетение распознавания чужеродных антигенов (снижение концентрации CD4+), что, в свою очередь, приводит к угнетению продукции ростовых и дифференцирующих факторов, которые необходимы для размножения и созревания В-лимфоцитов, незначительной стимуляции роста и размножения цитотоксических и супрессорных Т-клеток, замедлению активации макрофагальной системы, снижению иммунной толерантности, киллерной активности нулевых клеток [6, 7].

В периоде реконвалесценции отмечалось улучшение изучаемых показателей, однако выраженность этих изменений также зависела от наличия ЖДА у детей. Так, у пациентов с ВП без ЖДА их динамика нормализации была более интенсивной, чем у больных ВП с ЖДА. У детей I группы в конце лечения фагоцитарный индекс ($p < 0,05$), лимфоциты ($p < 0,001$), CD4+ ($p < 0,001$) повышались, вместе с тем, количество CD3+, CD8+, CD16+ и CD22+ достоверно не изменялись. При сравнении показателей пациентов с ВП без ЖДА в период реконвалесценции с показателями практически здоровых детей установлено, что фагоцитарный индекс и содержание CD4+ оставались без динамики, а количество лимфоцитов, CD3+, CD8+, CD16+, CD22+ нормализовалось.

У детей с ВП с ЖДА после базисного лечения фагоцитарный индекс ($p < 0,05$), количество лимфоцитов ($p < 0,01$), CD3+ ($p < 0,05$) достоверно возрастали, в то время как содержание CD4+, CD8+, CD16+ и CD22+ не изменялось относительно показателей детей в острый период. Фагоцитарный индекс, количество лимфоцитов, CD3+, CD4+, CD8+ у пациентов II группы в конце лечения по сравнению с аналогичными показателями детей контрольной группы не приходили к норме, и только содержание CD16+ и CD22+ нормализовалось ($p > 0,05$).

После проведенного протокольного лечения детей, больных ВП показатели гуморально-го иммунитета значительно улучшались, однако полной нормализации не происходило. У пациентов обеих групп в конце лечения наблюдались повышенные концентрации Ig G и сниженные уровни Ig M по сравнению с показателями детей в остром периоде.



В периоде реконвалесценции наблюдалась тенденция к понижению содержания Ig A, достоверное повышение концентрации Ig G ($p < 0,05$) относительно данных в начале лечения у детей с ВП без ЖДА и достоверное снижение уровня Ig M ($p < 0,05$). По сравнению с показателями практически здоровых детей наблюдалась нормализация содержания Ig A, Ig M и Ig G.

В сыворотке крови детей, больных ВП с ЖДА в конце лечения зафиксировано достоверное снижение уровня Ig M ($p < 0,01$). При этом, содержание Ig A и Ig G достоверно не изменялось. При сравнении показателей пациентов II группы с аналогичными показателями практически здоровых детей установлено, что содержание Ig G ($p < 0,05$) было достоверно ниже у детей с ВП ассоциированной с ЖДА.

Таким образом, полученные результаты исследований свидетельствуют, что при применении стандартной терапии ВП у детей наблюдалось только улучшение показателей, однако большинство из них не достигали данных детей группы контроля. Более значительный дисбаланс клеточного и гуморального звеньев иммунитета сохранялся у детей, больных ВП, ассоциированной с ЖДА. Учитывая то, что железо занимает значительное место в формировании иммунного ответа организма, регуляции функциональной активности Т- и В-лимфоцитов, нулевых клеток и макрофагов, можно предположить, что его дефицит усугубляет дисбаланс в гуморальном и клеточном звеньях иммунитета, вызванный воспалительным процессом, а именно внегоспитальной пневмонией.

Выводы:

1. В остром периоде заболевания у детей, больных внебольничной пневмонией без признаков железодефицитной анемии, в сыворотке крови отмечалось достоверное снижение фагоцитарного индекса, уровня лимфоцитов, CD3+, CD4+, CD16+ и увеличение концентрации Ig M.

2. В сыворотке крови детей, больных внебольничной пневмонией, ассоциированной с железодефицитной анемией, после госпитализации выявлялось достоверное снижение фагоцитарного индекса, концентрации лимфоцитов, CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+, Ig G и повышение количества Ig M.

3. В начале заболевания в сыворотке крови показатели фагоцитарного индекса ($p < 0,05$), количество лимфоцитов ($p < 0,01$), CD3+ ($p < 0,001$), CD4+ ($p < 0,001$), CD22+ ($p < 0,05$), Ig G ($p < 0,05$) и Ig A ($p < 0,05$) у детей, больных внебольничной пневмонией, ассоциированной с железодефицитной анемией были достоверно ниже, чем у пациентов с внебольничной пневмонией без признаков железодефицитной анемии.

4. В конце лечения у детей, больных внебольничной пневмонией без железодефицитной анемии, достоверно повышались фагоцитарный индекс, количество лимфоцитов, CD4+, Ig G и снижалось содержание CD8+, Ig M. При этом, нормализации фагоцитарного индекса, CD4+ не происходило.

5. В периоде реконвалесценции у пациентов, больных внебольничной пневмонией с железодефицитной анемией наблюдалась тенденция к повышению концентрации CD4+, CD8+, CD16+, CD22+, Ig A, Ig G. Наряду с этим, отмечалось достоверное повышение фагоцитарного индекса ($p < 0,05$) и количества лимфоцитов ($p < 0,01$), а также снижение уровня Ig M ($p < 0,05$) по сравнению с показателями острого периода.

Литература

1. Марушко Ю. В. Ефективність та безпечність застосування цефподоксиму проксетилу в складі ступінчастої антибіотикотерапії позалікарняної пневмонії у дітей із обтяженим алергічним анамнезом та супутньою алергічною патологією / Ю. В. Марушко, Г. Г. Шеф, О. С. Мовчан // Современная педиатрия. – 2013. – №5(53). – С. 110 – 115.
2. Марушко Ю. В. Досвід застосування препарату цефодокс у комплексній терапії позалікарняної пневмонії у дітей різних вікових груп / Ю. В. Марушко, Г. Г. Шеф, О. С. Мовчан, Н. А. Зелена // Здоровье ребенка. – 2013. – № 1(44). – С. 73 – 77.
3. Цимбаліста О.Л., Гаріджук Л.І. Характеристика цитокінового статусу у дітей раннього віку з ускладненою пневмонією на тлі залізодефіцитної анемії / О. Л. Цимбаліста, Л. І. Гаріджук // Перинатология и педиатрия. – 2011. – № 1 (45). – С. 66 – 69.
4. Гайдаш І.А. Показники клітинної ланки імунітету у дітей, хворих на пневмонію / Гайдаш І.А. // Український журнал екстремальної медицини імені Г.О. Можасєва. – 2008. Том 9. – №2. – с. 81 – 86.
5. Johnson EE. Iron metabolism and the innate immune response to infection / EE. Johnson, M. Wessling-Resnick // Microbes Infect. – 2012. – № 14(3). – P. 207 – 216.
6. Carver PL. Metal ions and infectious diseases. An overview from the clinic / PL. Carver // Met Ions Life Sci. – 2013. – № 13. – P. 1 – 28.
7. Cherayil BJ. Iron and immunity: immunological consequences of iron deficiency and overload / BJ. Cherayil // Arch Immunol Ther Exp (Warsz). – 2010. – № 58(6). – P. 407–415.
8. Yapi HF. Immune, inflammatory, and nutritional protein profile in children with iron deficiency in Côte d'Ivoire / HF Yapi, H Ahiboh, E Yayo, A Edjeme, ML Attoungbre-Hauhouot, JD Allico, D Monnet // Sante. – 2009. – № 19(1). – P. 25–28.



9. Наказ № 692 від 28.09.2009 МОЗ «Про затвердження методичних рекомендацій з методів досліджень біологічної дії природних лікувальних ресурсів та преформованих лікувальних засобів».

10. Mancini G. Immunochemical quantitation of antigens by single radial diffusion / G. Mancini, A. Carbonare, J. Haromans // *Immunochemistry*. – 1965. – № 2. – P. 235 – 239.

THE STATE OF CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITY IN TODDLERS SUFFERING FROM COMMUNITY – ACQUIRED PNEUMONIA ASSOCIATED WITH IRON DEFICIENCY ANEMIA

T.A. ROMANOVA¹

A.I. SMIYAN²

K.I. VASILISHIN²

T.P. BINDA²

V.A. SUKHARIEVA²

*¹Belgorod National
Research University*

²Sumy State University

e-mail: smiyana@ukr.net

The aim of the research was to study the peculiarities of the immune status on the basis of analysing cellular and humoral immunity in toddlers suffering from community-acquired pneumonia associated with iron deficiency anemia. We examined 50 children aged one to three years.

The study of the patients' immune status was carried out by determining the phagocytic index, lymphocyte level, CD3+ (T-lymphocytes), CD4+ (T-helpers), CD8+ (T-suppressors), CD16+ (null cells), CD22+ (B-lymphocytes) in the blood serum by using monoclonal antibodies and immunoglobulin A, G, M by radial immunodiffusion in agar by Mancini G. et al. during the treatment: 1–3rd day after hospital admission and during a sustained improvement of general condition (12–14th day).

It has been determined that acuity of illness is characterised by impairments in cellular and humoral immunity which are more expressed in patients with concomitant iron deficiency anemia. After conducting the treatment, positive dynamics of both cellular and humoral immunity indices has been noticed, although these indices have not been normalized.

Key words: pneumonia, children, immunity.