

Прибылова Нина Сергеевна

магистрант

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

Фирсова Наталья Викторовна

канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

Антонова Елена Ивановна

д-р биол. наук, профессор, директор

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

Зимнуров Айдар Раилевич

лаборант-исследователь, бакалавр

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-138828

**КОМПЛЕКСНЫЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ ДЕТЕЙ
РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП НА ФОНЕ
АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ**

Аннотация: в статье отражены показатели клеточного и гуморального иммунитета (специфического и неспецифического) в периферической крови детей разных возрастных групп с аллергических реакций на фоне атопического дерматита.

Ключевые слова: атопический дерматит, иммуноглобулины, фагоцитоз, аллергическая реакция, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет.

Атопический дерматит (АД) – аллергическое иммунозависимое воспаление, развивающееся у лиц с генетической предрасположенностью к атопии и признаками развития вторичного иммунодефицитного состояния, с возрастными особенностями клинических проявлений характеризующиеся, повышением уровня сывороточного IgE и гиперчувствительностью к специфическим (аллергенным) и неспецифическим раздражителям, нередко приводящую к инвалидности детей. На протяжении многих десятилетий АД остается одной из важнейших медико-социальных проблем во всем мире [9; 10]. АД имеет сложный патогенез, включающий генетические нарушения, дисфункцию эпидермального барьера, аномальные иммунные реакции, микробный дисбиоз кожи и факторы воздействия окружающей среды. В последнее время роль врожденных иммунных клеток в АД привлекла значительное внимание [9].

Иммунная дисрегуляция играет существенную роль в развитии АД. Одним из отличительных признаков АД является накопление воспалительных клеток в очаге поражения, включая Т-клетки, макрофаги, эозинофилы и тучные клетки. Напротив, непораженная атопическая кожа имеет редкий периваскулярный инфильтрат Т-клеток в дерме [7]. Учитывая, что 85% всех случаев АД проявляется в возрасте 5 лет, этот период может иметь решающее значение не только для развития АД, но и для модификации заболевания [6].

Мононуклеарные и полиморфноядерные лейкоциты участвуют во врожденной защите, быстро действуя против различных агентов. Эти лейкоциты первоначально проявляют хемотаксическую активность посредством миграции к хемотаксическим факторам, а затем в область, где развивается иммунный ответ с

последующим фагоцитозом патогенов и выведение инактивированных продуктов.

Тенденция к росту заболеваемости АД по всему миру обуславливает необходимость уточнения патогенеза заболевания и поиска маркеров, обладающих предиктивной ценностью в отношении риска развития заболевания, в том числе у людей с отягощенным семейным анамнезом [12]. Так, в частности отмечается дисбаланс со стороны иммунологических показателей сыворотки крови: снижается относительное количество CD3-, CD8-субпопуляции лимфоцитов, повышается абсолютное количество В-лимфоцитов, снижается уровень иммуноглобулинов классов IgA, IgM, IgG при резко повышенном уровне общего IgE. Значительно снижаются показатели фагоцитоза (ФАН, ФИ и НСТ-тест) и повышается уровень провоспалительного цитокина (IL-1 β) [3; 11]. Показано, что при аллергопатологиях наблюдается снижение доли Т-хелперов, увеличение аутоагрессивных Т-клеток, НК-клеток [1; 9]. Особенно плохо изучена эпидемиология АД у детей раннего возраста, поскольку данная возрастная группа не выделена в федеральных формах статистической отчетности и не была предусмотрена в масштабных международных эпидемиологических исследованиях.

В связи с этим *цель* нашего исследования – провести комплексный иммунологический анализ показателей клеточного и гуморального иммунитета (специфического и неспецифического) в периферической крови детей разных возрастных групп с аллергических реакций на фоне АД.

Материалы и методы. Проведено ретроспективное исследование данных, полученных в 2022 году при анализе 60 детей (30 девочек и 30 мальчиков) возрастной категории от 1 месяца до 15 лет с диагностированным АД. Дети были разделены на возрастные группы:

- первая – дети от 1 месяца до 3 лет (n = 14);
- вторая – от 4 до 7 лет (n = 24);
- третья – от 8 до 11 лет (n = 14);
- четвертая – от 12 до 15 лет (n = 8).

Определение субпопуляций лимфоцитов: LYM (CD45/SSC), В-LYM (CD19+, CD3-), Т-LYM (CD19-, CD3+), Th/Т-хелперы (CD3+, CD4+, CD19-) NK-клеток (CD3-, CD16-, CD56+), Т-NK (CD3+, CD16+, CD56+) выполнено на мультилазерном проточном цитофлуориметре CyFlow Spase (Partec GmbH, Германия). Результаты анализировали после непрямого окрашивания флуорофорами CD с оценкой бокового рассеяния (*SSC – side scattering*).

Общее количество лейкоцитов определяли на автоматическом гематологическом анализаторе MEK-6450 (Nihon Kohden, Япония).

Количественную оценку фагоцитарной активности (фаготест) гранулоцитов, моноцитов и макрофагов проводили методом проточной цитофлуориметрии на мультилазерном проточном цитофлуориметре CyFlow Spase (Partec GmbH, Германия) с использованием флуоресцентно меченных *E.coli* в образцах гепаринизированной цельной крови согласно инструкции производителя набора EXBIO IngoFlowEx Kit (ExBio, Чехия). Расчет ФИ и ФЧ проводился по стандартной методике. ФЧ (фагоцитарное число) определялось как процент клеток, поглотивших FITC-меченные *E.coli* оценивали, как фагоцитарную активность. ФИ (фагоцитарный индекс) – средний показатель интенсивности флуоресценции клеток, фагоцитировавших FITC-меченные *E.coli*, соответствует числу поглощенных *E.coli* в клетке – индекс фагоцитоза как показатель уровня активности фагоцитарных клеток.

Статистическая обработка полученных данных и создание графических изображений проводилась с использованием пакета программного обеспечения Prism 8.0.1 (Graphpad, USA) и Excel. Определяли среднеарифметическое значение и среднеквадратичное отклонение ($\text{Mean} \pm \text{StD}$), уровень значимости. Использование критерия Шапиро-Уилка (критерий W) для тестирования полученных данных пациентов на соответствие нормальному распределению позволило определиться с выбором непараметрических методов описания и сравнения выборок относительно референсного значения (*p-value*).

Результаты и их обсуждение. На основании сравнительного анализа между возрастными группами выявлено, что в третьей возрастной группе показатель

ФИ (рис. 1А) меньше на 31% ($p = 0,014$), чем в первой возрастной группе и на 21% ($p = 0,01$), чем во второй возрастной группе. В остальных группах статистически значимые отличия не выявлены. В патогенезе АД фагоциты (фагоцитоз) играют значительную роль в связи с их участием в различных типах иммунного ответа и секрецией многочисленных биологически активных соединений. Фагоцитарная активность фагоцитов защиту кожи от бактериальных и грибковых патогенов [4]. Так, в периоде обострения заболевания отмечается значительное снижение показателей ФИ фагоцитов.

Различия в количестве общего числа *LYM* (CD45/SSC) (рис. 1Б) между анализируемыми возрастными группами выявили, что в третьей возрастной группе показатель меньше на 48% ($p = 0,01$), чем в первой возрастной группе и на 42% ($p = 0,02$), чем во второй возрастной группе. Общее количество *LYM* (CD45/SSC) в четвертой возрастной группе меньше на 69% ($p = 0,007$), чем в первой возрастной группе и на 65% ($p = 0,005$), чем во второй возрастной группе. На долю лимфоцитов приходится до 50% всех лейкоцитов крови у детей. Лимфоциты являются иммунокомпетентными клетками специфической иммунной системы, обеспечивают иммунитет организм от внешних патогенных факторов и изменных «своих» клеток. Длительное течение лимфопении повышает риск развития заболеваний инфекционного генеза и к активации оппортунистических инфекций и аутоиммунной патологии [2; 13].

Различия количества *B-LYM* (CD19+CD3-) (рис. 1В) между возрастными группами проявляются в том, что в третьей возрастной группе количество *B-LYM* (CD19+CD3-) меньше на 76% ($p = 0,0003$), чем в первой возрастной группе и на 72% ($p = 0,01$), чем во второй возрастной группе. Кроме того, в четвертой возрастной группе количество *B-LYM* (CD19+CD3-) меньше на 78% ($p = 0,006$), чем в первой возрастной группе и на 75% ($p = 0,02$), чем во второй группе. В остальных группах статистически значимые отличия количества *B-LYM* (CD19+CD3-) не выявлены. В-лимфоциты, являются главными иммунокомпетентными антигенпрезентирующими клетками иммунной системы и играют важную роль в реализации гуморального иммунитета и синтезе антител. Если

говорить о клинической ценности оценки содержания в крови В-LYM его роль невелика из-за инертной, замедленной и недостаточно сильной и постоянной его реакции на динамику патологического процесса [5].

Количество T_LYM (CD19-CD3+) (рис. 1Г) между анализируемыми возрастными группами также отлично. Так, в частности в третьей возрастной группе количество Т-клеток меньше на 56% ($p = 0,03$) в первой возрастной группе и на 49% ($p = 0,03$), чем во второй возрастной группе. Кроме этого, в четвертой возрастной группе количество Т-LYM (CD19-CD3+) меньше на 75% ($p = 0,02$), чем в первой возрастной группе и на 71% ($p = 0,02$), чем во второй возрастной группе. В остальных группах статистически значимые отличия не выявлены. Снижение абсолютного количества Т-LYM в крови свидетельствует об угнетении клеточного иммунитета, в частности о недостаточности клеточно-эффекторного звена иммунитета. Т-LYM быстро и одни из первых среди иммунокомпетентных клеток реагируют на начало воспалительного процесса [5].

В четвертой возрастной группе количество $Th/T_хелперов$ (CD3+CD4+CD19-) (рис. 1Д) меньше на 73% ($p = 0,04$), чем во второй группе. В остальных группах статистически значимые отличия не выявлены. Th/Т-хелперы являются наиболее многочисленной популяцией Т-лимфоцитов (более 75%), являются главным регулятором почти всех иммунных функций посредством синтеза ряда белковых медиаторов (лимфокины), которые действуют на другие клетки иммунной системы, а также на клетки костного мозга. Стимулируют рост и дифференцировку В-клеток до стадии формирования плазматических клеток. При отсутствии лимфокинов, иммунная система почти парализована, что отражает иммунодефицитные состояния организма. Лимфокины влияют на макрофаги, замедляют или прекращают миграцию макрофагов после их хемотаксического притяжения в область воспаленной ткани. Нарушается влияние на Т-хелперы по принципу обратной связи [8].

Количество NK (CD3–16–56+) (рис. 1Е) в четвертой возрастной группе меньше на 52% ($p = 0,007$), чем в первой возрастной группе и на 67% ($p = 0,008$), чем во второй возрастной группе. В остальных группах статистически значимые

отличия не выявлены. Снижение уровня НК-клеток отражает развитие устойчивого состояния иммунодефицита. НК-клетки являются ключевыми компонентами врожденной иммунной системы, участвуют в развитии множества аутоиммунных заболеваний. Увеличение количества НК-клеток связано с активацией иммунитета, что является одним из показателей прогрессирования заболевания, свидетельствует о высоком риске хронизации воспалительного процесса, тяжелом течении воспалительных процессов, длительной персистенцией антигена в организме. Выявленная нами стойкая тенденция к снижению данного показателя свидетельствует о проявлении устойчивых состояний иммунодефицита, что усугубляет течение заболевания.

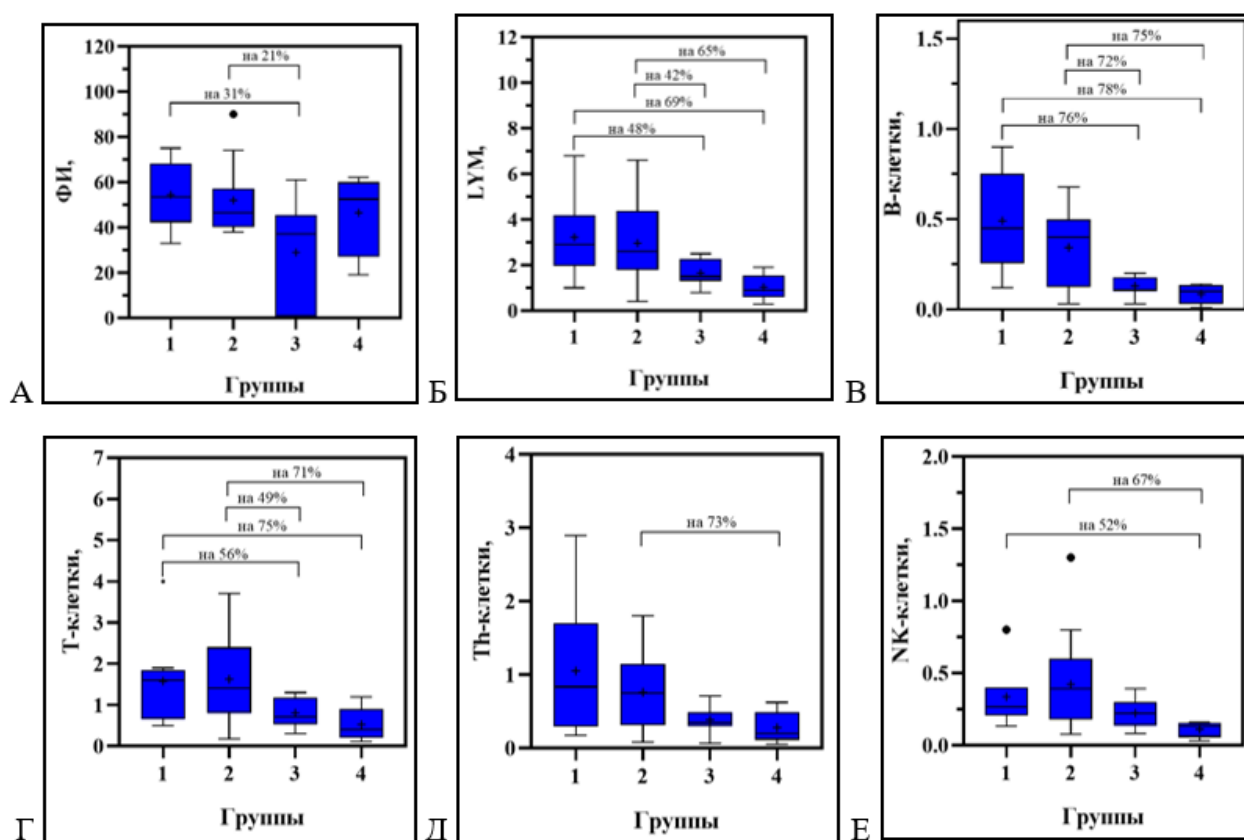


Рис. 1. Показатели ФИ (А), LYM (Б), В-LYM (В), Т-LYM (Г), Th (Д) и NK (Е) в исследуемых возрастных группах

Таким образом, у детей в возрасте от 1 месяца до 7 лет статистически значимых изменений со стороны иммунологических показателей периферической

крови не выявлено. Тем не менее у них отмечается тенденция к снижению показателей ФИ и общего количества Th/T-хелперов. Сниженные показатели В-LYM и Т-LYM в группе мальчиков указывают на состояние формирующегося иммунодефицита.

У мальчиков в возрасте от 8 до 15 лет выявлена тенденция к снижению общего количества В-LYM, Т-LYM, Th/T-хелперов и NK-клеток. Тогда как у девочек достоверно подтверждается выявленная тенденция только в показателях общего числа Т-LYM.

Сравнительный межгрупповой анализ изучаемых показателей выявил самые низкие показатели ФИ у детей в возрасте от 8 до 11 лет, LYM, В-LYM и Т-LYM – у детей в возрасте от 8 до 14 лет. При этом наибольшее снижение проявляет показатель общего числа В-LYM – более 72%, а также общее количество Т-LYM у детей в возрасте от 12 до 15 лет – более 75%. Самые низкие показатели Th/T-хелперов выявлены у детей в возрасте от 12 до 15 лет в сравнении с соответствующим показателем у детей в возрасте от 4 до 7 лет группой – более 70%. Самые низкие показатели NK-клеток выявлены у детей в возрасте от 12 до 15 лет в сравнении с соответствующими показателями у детей в возрасте от 1 месяца до 7 лет.

Список литературы

1. Экспрессия «неклассических» молекул главного комплекса гистосовместимости при бронхиальной астме и атопическом дерматите / О.С. Боева, В.И. Борисевич, В.С. Аббасова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2025. – Т. 28. №2. – С. 229–234. – DOI 10.46235/1028-7221-17027-EON. – EDN MTKWLW

2. Ватутин Н.Т. Лимфопения: основные причины развития / Н.Т. Ватутин, Е.В. Ещенко // Архивъ внутренней медицины. – 2016. – №2 (28). – С. 22–27.

3. Уровень иммуноглобулинов в периферической крови у детей различной возрастной группы с клиническим диагнозом атопический дерматит / А.Р. Зимнуров, С.Д. Рашитова, Л.Н. Цвилик [и др.] // Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии:

материалы VI Всерос. науч.-практич. конф. с международным участием (Ульяновск, 22 мая 2023 г.) / редкол.: Е. И. Антонова [и др.] – Чебоксары: Среда, 2023. – С. 183-190. – ISBN 978-5-907688-37-7. – DOI 10.31483/r-107056. EDN KDDZFR

4. Активность фагоцитоза у больных атопическим дерматитом с подтвержденной контаминацией кожи дрожжами рода *Candida* spp. / М.В. Тарасова, И.В. Елистратова, О.Б. Иванченко [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2020. – №64 (1). – С. 47–53. – DOI 10.25557/0031-2991.2020.01.47-53. – EDN YYYYFWO

5. Ярец Ю.И. Интерпретация результатов иммунограммы / Ю.И. Ярец, – Гомель: ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2020. – 38 с.

6. Chong A.C., Visitsunthorn K., Ong P.Y. Genetic/Environmental Contributions and Immune Dysregulation in Children with Atopic Dermatitis. *J Asthma Allergy*. 2022. 15. Pp. 1681–1700. DOI 10.2147/jaa.s293900. EDN HJADTC

7. Hawerkamp H.C., Fahy C.M.R., Fallon P.G. [et al.]. Proryv: rol' vrozhdennogo immuniteta i bar'yernoy zashchity pri atopicheskom dermatite i psoriaze. *Skin Health Dis*. 2022. 2 (2). 99 p.

8. Kim C.H., Samra M.S. Moderate to severe atopic dermatitis in children: focus on systemic Th2 cytokine receptor antagonists and Janus kinase inhibitors. *Clin Exp Pediatr*. 2024. 67 (2). Pp. 64–79.

9. Pan Y., Wang Y., Xu M. [et al.]. The roles of innate immune cells in atopic dermatitis. *J Innate Immun*. 2024. 16(1). Pp. 385–396.

10. Riaz B., Islam S.M.S., Ryu H.M., Sohn S. CD83 Regulates the Immune Responses in Inflammatory Disorders. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 1. Pp. 24–30.

11. Rojas-Espinosa O., Islas -Trujillo P., Villanueva S. [et al.]. Phagocytosis: A practical approach for evaluating neutrophil function in health and disease. *Modern Research in Inflammation*. 13. 2024. Pp. 9–28. DOI 10.4236/mri.2024.132002. EDN MLTWPD

12. Silverberg J.I., Barbarot S., Gadkari A. [et al.]. Atopic dermatitis in the pediatric population: A cross-sectional, international epidemiologic study. *Ann Allergy*

Asthma Immunol. 2021 Apr; 126 (4). Pp. 417–428. DOI 10.1016/j.anai.2020.12.020.
EDN HZILPQ

13. Zheng P., Chang X., Lu Q., Liu Y. Cytopenia and autoimmune diseases: a vicious cycle fueled by mTOR dysregulation in hematopoietic Stem Cells. J. Autoimmun. 2013; 41: 182–187.