

Т.Г. Маланичева<sup>1</sup>, Ю.Л. Мизерницкий<sup>2</sup>, Е.В. Агафонова<sup>1,3</sup>, С.С. Можгина<sup>4</sup>**СОСТОЯНИЕ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ  
С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ НА ФОНЕ СНИЖЕННОЙ  
РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА**

<sup>1</sup>Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, <sup>2</sup>Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, г. Москва, <sup>3</sup>ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора, г. Казань, <sup>4</sup>Детская республиканская клиническая больница Республики Татарстан, г. Казань, РФ



**Цель исследования:** углубленное изучение показателей местного иммунитета у детей с рекуррентными респираторными заболеваниями (РРЗ), заболевших внебольничной пневмонией (ВП), для оптимизации иммунотерапии. **Материалы и методы исследования:** под наблюдением находились 83 ребенка в возрасте от 3 до 7 лет с ВП. Основная группа – 50 детей с РРЗ, заболевших ВП. В группу сравнения вошли 33 ребенка дошкольного возраста с хорошей резистентностью организма (не относящиеся к группе часто болеющих детей со значениями индекса резистентности 0,2–0,3), заболевшие ВП. Изучали показатели мукозального иммунитета индуцированной мокроты с оценкой ее клеточного состава, выраженности деструктивных изменений в популяции нейтрофилов и фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов. Оценивали интралейкоцитарную микробицидную систему нейтрофила, уровень иммуноглобулинов основных классов и sIgA. Локальный цитокиновый профиль изучали по содержанию провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО $\alpha$ , ИФН $\gamma$ ). **Результаты:** отмечен выраженный дисбаланс между различными функциональными характеристиками нейтрофильных гранулоцитов – наряду с депрессией выхода нейтрофилов у детей с РРЗ имеется нарастание числа нейтрофилов с признаками деструкции ядра и цитоплазмы. Установлено угнетение цитотоксической активности, проявляющееся снижением кислород-зависимой биоцидности и угнетением интралейкоцитарной микробицидной системы нейтрофилов. Показано, что угнетение синтеза иммуноглобулинов и дисбаланс в системе локального синтеза провоспалительных и противовоспалительных цитокинов являются важными факторами нарушений локального мукозального профиля. На фоне выявленных нарушений мукозального иммунитета отмечается более длительная динамика купирования основных клинико-рентгенологических симптомов ВП у детей с РРЗ, что дает научное обоснование целесообразности включения иммунокорректирующей терапии в комплекс лечения этих больных.

**Ключевые слова:** дети, внебольничная пневмония, локальный мукозальный иммунитет, цитокины, иммуноглобулины.

**Цит.:** Т.Г. Маланичева, Ю.Л. Мизерницкий, Е.В. Агафонова, С.С. Можгина. Состояние мукозального иммунитета у детей с внебольничной пневмонией на фоне сниженной резистентности организма. *Педиатрия им. Г.Н. Сперанского*. 2020; 99 (6): 105–111.

Т.Г. Malanicheva<sup>1</sup>, Yu.L. Mizernitskiy<sup>2</sup>, E.V. Agafonova<sup>1,3</sup>, S.S. Mozhgina<sup>4</sup>**THE STATE OF MUCOSAL IMMUNITY IN CHILDREN  
WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA AGAINST  
THE BACKGROUND OF REDUCED BODY'S RESISTANCE**

<sup>1</sup>Kazan State Medical University, Kazan, <sup>2</sup>Clinical Research Institute of Pediatrics named after acad. Y.E. Veltishev, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, <sup>3</sup>Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Kazan, <sup>4</sup>Children's Republican Clinical Hospital of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia

**Контактная информация:**

**Маланичева Татьяна Геннадьевна** – д.м.н., проф. каф. пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета КГМУ  
**Адрес:** Россия, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49  
**Тел.:** (843) 268-58-21, **E-mail:** tgmal@mail.ru  
Статья поступила 17.02.20,  
принята к печати 24.11.20.

**Contact Information:**

**Malanicheva Tatyana Gennadievna** – MD, prof. of Propedeutics of Pediatric Diseases Department with a course of pediatric diseases, Medical Faculty of Kazan State Medical University  
**Address:** Russia, 420012, Kazan, ul. Butlerova, 49  
**Phone:** (843) 268-58-21, **E-mail:** tgmal@mail.ru  
Received on Feb. 17, 2020,  
submitted for publication on Nov. 24, 2020.

**Objective of the research:** in-depth study of local immunity indices in children with recurrent respiratory diseases (RRD) who fell ill with community-acquired pneumonia (CAP) to optimize immunotherapy. **Materials and methods:** 83 children aged 3 to 7 years with CAP were under observation. The main group included 50 children with RRD who fell ill with CAP. The comparison group included 33 preschool children with good body's resistance (not belonging to the group of frequently ill children with IR values of 0,2–0,3) who fell ill with CAP. **Methods:** the indicators of mucosal immunity of induced sputum with an assessment of its cellular composition, the severity of destructive changes in the neutrophil population and phagocytic activity of neutrophilic granulocytes were studied. Intraleukocyte microbicidal system of neutrophil, the level of main classes immunoglobulins and sIgA were assessed. The local cytokine profile was studied by the content of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ). **Results:** the study revealed a pronounced imbalance between different functional characteristics of neutrophilic granulocytes – along with depression of neutrophil release in children with RRD, there is an increase in the number of neutrophils with signs of nucleus and cytoplasm destruction. Inhibition of cytotoxic activity, manifested by a decrease in oxygen-dependent biocidal activity and inhibition of the intraleukocytic microbicidal system of neutrophils was revealed. It was shown that inhibition of immunoglobulins synthesis and imbalance in the system of local synthesis of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines are important factors in the disorders of local mucosal profile. Against the background of the revealed disorders of mucosal immunity, there is a longer dynamics of relief of main CAP clinical and radiological symptoms in children with RRD, which provides a scientific justification for the including of immunocorrective therapy in the treatment complex for these patients.

**Keywords:** children, community-acquired pneumonia, local mucosal immunity, cytokines, immunoglobulins.

**Quote:** T.G. Malanicheva, Yu.L. Mizernitskiy, E.V. Agafonova, S.S. Mozhgina. The state of mucosal immunity in children with community-acquired pneumonia against the background of reduced body's resistance. *Pediatrics n.a. G.N. Speransky. 2020; 99 (6): 105–111.*

Актуальность проблемы внебольничной пневмонии (ВП) обусловлена не только большой ее распространенностью, но и высокой смертностью среди детского населения [1–5]. Особенно опасна ВП для детей со сниженной резистентностью, так как в данной группе отмечаются крайняя напряженность процессов иммунного ответа и недостаточность резервных возможностей организма [6, 7]. У детей с рекуррентными респираторными заболеваниями (РРЗ) ВП имеет клинические особенности и обычно протекает более тяжело [8]. В настоящее время сведения о состоянии микробицидной системы при ВП у детей с РРЗ неоднозначны, что указывает на недостаточную изученность проблемы и обосновывает необходимость более глубоких исследований [9–12]. Важные показатели резистентности организма – функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов, которые в очаге воспаления ответственны за процесс фагоцитоза, а также параметры местного (мукозального) иммунитета [13]. Целью исследования стало углубленное изучение показателей местного иммунитета у детей с РРЗ, заболевших ВП, для обоснования и оптимизации иммунотерапии.

#### Материалы и методы исследования

В одноцентровом проспективном открытом сравнительном исследовании участвовали 83 ребенка от 3 до 7 лет, больные ВП со среднетяжелым течением заболевания с очаговыми и очагово-сливными формами. Исследование одобрено локальным этическим комитетом КГМУ (протокол № 12 от 15.01.2017 г.). Получено информированное согласие на участие всех пациентов

в исследовании, проведенном на базе пульмонологического отделения 3-го корпуса ДРКБ РТ и клинико-диагностической лаборатории ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора с 2016 по 2019 гг. Для оценки влияния РРЗ на параметры мукозального иммунитета при ВП отобраны пациенты, сопоставимые по тяжести течения (среднетяжелое течение), объему поражения и характеристикам основных клинических симптомов заболевания. В исследование не включали детей с хроническими аллергическими и соматическими заболеваниями. Основная группа – 50 детей (27 мальчиков и 23 девочки) с ВП на фоне РРЗ и пониженной резистентности организма.

Резистентность оценивали на основе количества острых респираторных заболеваний (ОРЗ) на протяжении года, а также значений индекса резистентности (ИР), рассчитанного на основе отношения числа всех случаев ОРЗ за год к возрасту ребенка. В основной группе количество перенесенных ОРЗ в среднем составило  $7,3 \pm 0,8$  в течение года, значения ИР –  $0,9 \pm 0,05$ .

В группу сравнения вошли 33 ребенка с ВП, сопоставимые по возрасту и гендерному составу, с нормальной резистентностью (ИР  $0,25 \pm 0,03$ ; в среднем количество ОРЗ за год составило  $2,7 \pm 0,02$ ).

Обследование детей с ВП проводили с помощью клинических методов с оценкой динамики купирования клинических симптомов заболевания ежедневно на протяжении периода госпитализации и лабораторно-инструментальных методов исследования.

Рутинные методы – общий анализ крови и мочи, исследование кала на яйца глист и простейшие, биохимический анализ крови – уровни С-реактивного белка

(СРБ), общего белка и показатели протеинограммы. Для определения СРБ использована тест-система CRP U-hs FS (DiaSys Diagnostic GmbH, Германия). За норму СРБ в сыворотке крови принимали уровень <5 мг/л.

Диагноз ВП подтверждали рентгенографией органов грудной клетки. Всем детям проводили пульсоксиметрию. Этиологическую диагностику выполняли в первые сутки госпитализации с помощью бактериологического и бактериоскопического исследований индуцированной мокроты [14]. При наличии клинических показаний назначали консультации отоларинголога и аллерголога.

**Специальные методы исследования.** Проводили углубленное исследование показателей мукозального иммунитета в индуцированной мокроте. Для изучения клеточного состава собранной мокроты определяли количественный уровень нейтрофилов, лимфоцитов, эпителиальных клеток, альвеолярных макрофагов и эозинофилов. Оценивали выраженность деструктивных изменений в клеточных популяциях нейтрофилов с помощью выделения 4 классов деструкции: n0, n1, n2, n3 и n4 на основе состояния цитоплазмы и ядра клетки. Класс деструкции n0 – клетки без признаков деструкции цитоплазмы клетки и ядра; класс n1 – клетки с минимальными деструкциями только цитоплазмы, без повреждения ядра; класс n2 – нейтрофилы со значительной деструкцией цитоплазмы и минимальными повреждениями ядра; класс n3 – клетки с полной деструкцией цитоплазмы и существенными признаками деструкции ядра; класс n4 – нейтрофилы с полной деструкцией и распадом цитоплазмы и ядра [15].

Расчет индекса деструкции клетки (ИДК) проводили на основе вычисления значений среднего показателя деструкции (СПД) и индекса цитолиза клетки (ИЦК) по следующим формулам:  $ИДК = (n1 + n2 + n3 + n4) / 100$ ,  $СПД = (1 \cdot n1 + 2 \cdot n2 + 3 \cdot n3 + 4 \cdot n4) / 100$ ,  $ИЦК = n4 / (n0 + n1 + n2 + n3 + n4)$ , где 0, 1, 2, 3, 4 – номера классов деструкции, n0, n1, n2, n3, n4 – количество клеток соответствующего класса [16].

Оценивали содержание иммуноглобулинов основных классов и уровень секреторного иммуноглобулина А в индуцированной мокроте методом иммуноферментного анализа (ИФА) («Вектор-Бест», Новосибирск).

Цитокиновый статус оценивали по уровню интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-8 (IL-8), интерлейкина-10 (IL-10), фактора некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ), интерферон-гамма (IFN $\gamma$ ) в индуцированной мокроте методом ИФА («Вектор-Бест», Новосибирск и «Протеиновый контур», Санкт-Петербург).

Цитотоксическую активность нейтрофилов оценивали с использованием спонтанного и стимулированного зимозаном (Sigma, США) вариантов теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-теста). Содержание миелопероксидазы (МПО), кислой фосфатазы (КФ) и катионных белков (КБ) тестировали спектрофотометрическим методом [17].

Фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) местного иммунитета определяли с помощью показателей ФАН1 и ФАН2. ФАН1 представляет собой процент фагоцитирующих аутофлору нейтрофилов, ФАН2 – процент деструктурированных нейтрофилов,

которые имеют в цитоплазме непереваренные микроорганизмы, и является показателем незавершенности фагоцитоза.

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью пакета программ Statistica 10 (StatSoft, США). Размер выборки предварительно не рассчитывали. При тестировании закона распределения полученных показателей при помощи критерия Колмогорова–Смирнова не выявлено отличий от нормального. Проводили расчет среднего арифметического (M) и средних ошибок средней арифметической (m). Сравнение двух независимых выборок проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали значения, соответствующие  $p < 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Основная клиническая симптоматика в начале исследования была априори сопоставимой в группах обследуемых детей в соответствии с критериями включения. Для большинства больных характерно постепенное начало заболевания:  $80,0 \pm 3,6\%$  в основной группе,  $81,8 \pm 3,4\%$  в группе сравнения ( $p > 0,05$ ). Характерными симптомами пневмонии в обеих группах были, соответственно, фебрильная лихорадка ( $90,0 \pm 7,9\%$ ;  $87,9 \pm 7,1\%$ ;  $p > 0,05$ ), симптомы интоксикации ( $86,0 \pm 6,7\%$ ;  $90,9 \pm 8,1\%$ ;  $p > 0,05$ ); малопродуктивный кашель ( $84,0 \pm 7,5\%$ ;  $81,8 \pm 9,2\%$ ;  $p > 0,05$ ). Признаки дыхательной недостаточности (цианоз, тахипноэ, диспноэ, втяжение уступчивых мест грудной клетки) с одинаковой частотой регистрировались как в основной группе детей –  $38,0 \pm 3,9\%$ , так и в группе сравнения –  $36,4 \pm 3,1\%$  ( $p > 0,05$ ). Практически с одинаковой частотой в исследуемых группах детей на первом этапе обследования определены укорочение перкуторного звука ( $82,0 \pm 7,1\%$ ;  $84,8 \pm 10,1\%$ ;  $p > 0,05$ ), ослабленное дыхание ( $30,0 \pm 2,2\%$ ;  $33,3 \pm 2,8\%$ ;  $p > 0,05$ ), локальная крепитация и влажные мелкопузырчатые хрипы ( $74 \pm 3,9\%$ ;  $72,2 \pm 3,9\%$ ;  $p > 0,05$ ). В основной группе число детей с очаговой формой ВП составило  $40,0\%$ , очагово-сливной –  $36,0\%$ , сегментарной –  $24,0\%$ , а в группе сравнения, соответственно, –  $39,4\%$ ,  $33,3\%$  и  $27,3\%$ . Уровень лейкоцитов периферической крови в основной группе –  $16,3 \pm 2,2 \times 10^9 / л$ , а в группе сравнения –  $15,8 \pm 3,4 \times 10^9 / л$  ( $p > 0,05$ ). Уровень СРБ в основной группе –  $45,4 \pm 3,9$  мг/л, а в группе сравнения –  $47,3 \pm 2,9$  мг/л ( $p > 0,05$ ); прокальцитонина –  $1,6 \pm 0,5$  и  $1,5 \pm 0,8$  нг/мл ( $p > 0,05$ ) соответственно.

Таким образом, закономерно по клиническим симптомам и данным лабораторного обследования группы были полностью сопоставимы в начале обследования. Однако динамика купирования клинических симптомов и синдромов (табл. 1) в изучаемых группах имела статистически значимые различия. Фебрильная лихорадка и другие симптомы интоксикации более длительно сохранялись у детей с ВП на фоне РРЗ ( $p < 0,05$ ). У них длительно сохранялись малопродуктивный кашель ( $p < 0,05$ ), признаки дыхательной недо-

Динамика клинических симптомов ВП у детей в сравниваемых группах

Симптомы заболевания, дни	Основная группа М±m	Группа сравнения М±m
Фебрильная лихорадка (от начала заболевания)	6,5±0,4*	4,5±0,2
Симптомы интоксикации	7,5±0,5*	5,5±0,3
Малопродуктивный кашель	7,0±0,9*	4,5±0,3
Признаки дыхательной недостаточности	5,0±0,09*	3,5±0,2
Укорочение перкуторного звука	8,5±0,6	6,0±0,2
Ослабленное дыхание	6,0±0,5	4,5±0,2
Локальная крепитация и мелкопузырчатые влажные хрипы	10,5±0,6*	7,5±0,2

\* $p < 0,05$  – значимость различий между основной группой и группой сравнения.

статочности ( $p < 0,05$ ) и физикальные симптомы – укорочение над легкими перкуторного звука, локальная крепитация и мелкопузырчатые влажные хрипы ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, у детей с ВП на фоне РРЗ отмечена более затяжная динамика купирования основных клинических синдромов и симптомов ВП по сравнению с группой пациентов, у которых ВП протекала на фоне нормальной резистентности. Также в группе детей с РРЗ отмечена более медленная динамика рентгенологического разрешения процесса в легочной ткани (в основной группе – на  $16,5 \pm 1,5$  дня, а в группе сравнения – на  $12,0 \pm 1,8$  дня;  $p < 0,05$ ). Полученные результаты можно объяснить тем, что одним из наиболее важных факторов затяжного течения воспалительных процессов в бронхолегочной системе является вторичная иммунная недостаточность мукозального иммунитета, определяемая функциональным состоянием системы нейтрофильных гранулоцитов и возможным дисбалансом синтеза иммуноглобулинов и цитокинов [7–13].

Это подтверждено анализом показателей иммунитета, согласно которому у детей с РРЗ, заболевших ВП, цитологический профиль по основным клеточным популяциям имел статистически значимые отличия от группы сравнения. Так, относительное количество нейтрофилов в основной группе было в 2,2 раза ниже, чем в группе сравнения, и составило  $20,7 \pm 6,2\%$  против  $45,6 \pm 3,9\%$  ( $p < 0,001$ ). Такая же тенденция отмечалась в отношении альвеолярных макрофагов: их количество в основной группе было в 1,5 раза ниже, чем в группе сравнения –  $24,3 \pm 5,6\%$  против  $35,9 \pm 3,1\%$  ( $p < 0,05$ ). Уровень эозинофилов был повышен в 2,3 раза –  $4,0 \pm 0,5\%$  против  $1,6 \pm 0,19\%$  ( $p < 0,001$ ); количество эпителиальных клеток увеличено в 4 раза –  $43,9 \pm 3,5\%$  против  $10,6 \pm 1,8\%$  ( $p < 0,001$ ); при этом количество лимфоцитов не различалось в сравниваемых группах и составило  $6,9 \pm 0,7$  и  $6,3 \pm 0,5\%$  соответственно ( $p > 0,05$ ).

При дальнейшем изучении цитоморфологического состава клеток в популяциях нейтрофилов выявлены значимые различия в сравнива-

Таблица 2

### Цитоморфологическая характеристика нейтрофилов индуцированной мокроты у детей с ВП в сравниваемых группах

Группы детей	Число клеток с разным классом деструкции, %					ИД	СПД	ИЦ
	n0 М±m	n1 М±m	n2 М±m	n3 М±m	n4 М±m			
Основная группа (n=30)	36,6±3,9*	18,2±2,7	19,6±2,7	10,2±1,2**	9,4±3,9**	0,6±0,05*	0,7±0,06*	0,03±0,002**
Группа сравнения (n=23)	55,9±4,7	21,9±3,1	15,4±1,5	5,5±1,3	1,1±0,1	1,1±0,1	1,1±0,03	0,2±0,02

ИД – индекс деструкции клеток, СПД – средний показатель деструкции, ИЦ – индекс цитолиза клеток; \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,001$  – значимость различий между основной группой и группой сравнения.

Таблица 3

### Микробицидная и фагоцитарная активность нейтрофилов индуцированной мокроты у детей с ВП в сравниваемых группах

Группы детей	ФАН1 М±m	ФАН2 М±m	НСТ спонт., % М±m	НСТ стим., % М±m
Основная группа (n=50)	1,73±0,013*	2,71±0,013*	14,91±5,23*	48,91±6,01*
Группа сравнения (n=33)	2,65±0,012	1,61±0,013	38,98±3,01	78,21±6,23

\* $p < 0,05$  – значимость различий между основной группой и группой сравнения.

**Интралейкоцитарная микробицидная система нейтрофилов в индуцированной мокроте у детей с ВП в сравниваемых группах**

Группы детей	Миелопероксидаза ОД/10 <sup>3</sup> М±m	Кислая фосфатаза ОД/10 <sup>3</sup> М±m	Катионные белки ОД/10 <sup>3</sup> М±m
Основная группа (n=30)	0,12±0,04*	0,21±0,03**	0,11±0,011*
Группа сравнения (n=23)	0,51±0,07	0,55±0,06	0,14±0,012

\*p<0,05, \*\*p<0,001 – значимость различий между основной группой и группой сравнения.

Таблица 5

**Содержание иммуноглобулинов основных классов в индуцированной мокроте у детей с ВП в сравниваемых группах**

Группы детей	SIgA, мкг/мл	IgA, мкг/мл	IgG, мкг/мл	IgM, мкг/мл
Основная группа (n=50)	0,02±0,001*	0,07±0,07*	0,028±0,011*	0,021±0,004
Группа сравнения (n=33)	0,25±0,07	0,15±0,07	0,058±0,011	0,021±0,005

\*p<0,05 – значимость различий между основной группой и группой сравнения.

Таблица 6

**Показатели локального цитокинового профиля в индуцированной мокроте у детей с ВП в сравниваемых группах после проведенной терапии**

Группы детей	IL-8, пг/мл	TNFα, пг/мл	IFNγ, пг/мл	IL-4, пг/мл	IL-10, пг/мл
Основная группа (n=50)	1,82±0,32*	6,44±0,42*	1,16±5,22*	40,81±3,6*	10,82±1,06*
Группа сравнения (n=33)	3,41±0,17	1,65±0,02	3,52±0,18	19,81±8,60	2,75±0,3

\*p<0,05 – значимость различий изучаемых показателей в сравниваемых группах.

емых группах (табл. 2). Так, в основной группе отмечалось статистически значимое увеличение не только содержания нейтрофилов, имеющих значительные признаки деструкции (класс n3) в 1,8 раза, но и нейтрофилов с полной деструкцией и распадом цитоплазмы и ядра (класс n4) – в 8,5 раза. Также выявлено, что количество нейтрофилов с незначительными признаками деструкции (классы n1 и n2) не имело статистически значимых отличий в сравниваемых группах. Таким образом, у детей основной группы в отличие от группы сравнения происходило увеличение индекса цитолиза клеток в 6,5 раза (p<0,001), индекса деструкции клеток – в 1,5 раза (p<0,05) и среднего показателя деструкции – в 1,6 раза (p<0,05).

Таким образом, у детей с РРЗ, заболевших ВП, отмечается депрессия выхода нейтрофилов в бронхиальный секрет, что подтверждается развитием нейтропении на фоне выраженного роста нейтрофилов с полной деструкцией и распадом цитоплазмы и ядра.

Именно нейтрофил занимает одну из активных позиций в системе гуморально-клеточной кооперации крови и соединительной ткани, что делает его универсальной мишенью и уникальным индикатором при различных нарушениях гомеостаза. От фонового состояния микробицидности нейтрофилов, которые эмигрируют в секреты, от его функционального потенциала во многом зависит не только развитие, но и исход бактериального процесса, локализуемого в том числе и в бронхолегочной системе при ВП у

детей. В группе детей с РРЗ отмечена выраженная депрессия спонтанной активации микробицидных систем, регистрируемая по спонтанному НСТ-тесту, при этом активность оксидазных систем, стимулированная зимозаном, истощается до 48,9% (в группе сравнения она составила 78,2%; p<0,001). Таким образом, у детей с ВП на фоне РРЗ отмечены как исходно низкий функциональный потенциал микробицидности, так и быстрая истощаемость резервных возможностей клетки, низкая ее чувствительность к стимулам, что является одной из важных причин, способствующих более тяжелому течению ВП.

При изучении фагоцитарной активности нейтрофилов показано (табл. 3), что в основной группе, в отличие от группы сравнения, имеет место значимое уменьшение (в 1,5 раза) процента фагоцитирующих аутофлору нейтрофилов (показатель ФАН1, p<0,05). В то время как процент деструктурированных нейтрофилов с сохранением в цитоплазме целых микроорганизмов (показатель ФАН2), наоборот, в основной группе в 1,7 раза превышал показатели группы сравнения (p<0,05). Итак, у детей с РРЗ, развивших ВП, имеет место депрессия функциональной активности нейтрофилов в бронхиальном секрете с повышением уровня деструктурированных нейтрофилов, что определяет незавершенность фагоцитоза.

При изучении интралейкоцитарной микробицидной системы нейтрофилов выявлены статистически значимые различия в сравниваемых группах детей (табл. 4). В основной группе по

сравнению с группой сравнения выявлено значимое снижение уровня МП ( $p < 0,05$ ) – протеина, высвобождающегося при инфекционном стимуле из основных гранул активированных нейтрофилов и обладающего высокой цитотоксической активностью. При этом важна оценка не только МП нейтрофилов, но и уровня эозинофильной пероксидазы и бактериальных ферментов [13]. Динамика изменения других ферментов интралейкоцитарной микробицидной системы у детей с РРЗ – КФ и КБ была сходной с динамикой МП. КФ – важнейший фермент нейтрофильных гранулоцитов, отражающий его функциональное состояние [13]. Активный фагоцитоз бактериальных патогенов стимулирует синтез лизосомальных ферментов, в том числе и КБ, в количествах, необходимых для переваривания поглощенного материала. Нами выявлено статистически значимое угнетение количества КФ у детей основной группы ( $p < 0,001$ ). КБ – большая, гетерогенная по своей структуре и функциям группа протеинов, содержащихся в азурофильных и специфических гранулах нейтрофилов. К КБ относятся дефензины, лизоцим, лактоферрин, бактерицидная проницаемость-увеличивающий белок, катепсин G, эластаза, фосфолипаза А [13]. Показано, что КБ находятся в синергическом взаимодействии с системой МП – перекись водорода. В группе детей с РРЗ зарегистрировано статистически значимое снижение уровня КБ в нейтрофилах ( $p < 0,05$ ). Зрелые нейтрофилы периферической крови оказываются не способными к синтезу и накоплению КБ, и в ходе выполнения своих функций расходуют преформированные запасы данных биоцидных и регуляторных протеинов. По всей видимости, у детей с РРЗ происходит истощение преформированных запасов КБ, что становится фактором, усложняющим течение у них бактериального процесса.

Таким образом, при изучении интралейкоцитарной микробицидной системы выявлено значительное нарушение процессов дегрануляции при ВП, протекающей на фоне РРЗ. При этом дискуссионным остается вопрос о генезе нарушений – они могут иметь как первичный характер, так и сформироваться при длительном антигенном воздействии вследствие РРЗ.

По результатам исследований локального гуморального звена иммунной системы подтверждено значительное угнетение выработки иммуноглобулинов у детей на фоне РРЗ (табл. 5). В основной группе обращают на себя внимание низкие уровни sIgA и IgA (0,02 и 0,07 мкг/мл) по сравнению с группой сравнения (0,25 и 0,15 мкг/мл;  $p < 0,05$ ). Важное значение и развитии эффекторных функций системы мукозального иммунного ответа имеет SIgA, препятствующий попаданию через слизистую оболочку дыхательных путей разных антигенов и усиливающий действие факторов неспецифической защиты. Сниженное количество IgA в крови,

предшественника sIgA, соотносится с активацией эндогенной микрофлоры в группе детей с РРЗ. Локальный уровень IgG также был значительно ниже в группе детей с РРЗ ( $p < 0,05$ ). Отсутствие выраженной реакции IgG также может способствовать активации эндогенной микрофлоры при ВП, протекающей на фоне РРЗ. Вместе с тем при исключении редких случаев врожденных дефектов синтеза иммуноглобулинов иммунная недостаточность локального мукозального иммунитета при РРЗ может быть обусловлена чрезмерной антигенной нагрузкой, которая превышает допустимые возможности функционального ответа иммунной системы детского организма и вызывает относительную ее недостаточность, а также непосредственным влиянием вирусных и бактериальных респираторных патогенов на клетки-продуценты локального синтеза иммуноглобулинов.

Цитокиновый профиль у детей с ВП на фоне РРЗ изучали на основе оценки уровней провоспалительных (IL-8, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) и противовоспалительных (IL-10, IL-4) цитокинов в индуцированной мокроте (табл. 6). В основной группе детей количество TNF $\alpha$  было в 4 раза выше, содержание IL-8, наоборот, – в 1,8 раза ниже, в чем в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). Цитокин IL-8 относится к провоспалительным цитокинам, оказывающим хемотаксическое активирующее воздействие на нейтрофилы и усиливающим миграцию фагоцитов в места внедрения чужеродного агента [16]. Уменьшение местного содержания IL-8 у детей с РРЗ, заболевших ВП, вероятно, обусловлено длительной персистенцией инфекционных патогенов, что способствовало угнетению выхода функционально полноценных нейтрофилов в бронхиальный секрет, а также вело к формированию вторичной фагоцитарной дисфункции, усугублявшей течение ВП у пациентов данной группы. На фоне повышения локального уровня TNF $\alpha$  отмечены гиперактивация клеток индуцированной мокроты, деструкция, апоптоз, способствовавшие формированию вторичных дисфункций нейтрофилов. При изучении содержания IFN $\gamma$  выявлено статистически значимое угнетение его синтеза в группе детей с РРЗ. Поскольку IFN $\gamma$  – важнейший цитокин, регулирующий функции нейтрофилов, можно предположить, что его низкий уровень негативно влияет на регуляцию активности нейтрофилов, способствуя формированию у них низкого фагоцитарного потенциала. Интересные данные получены нами и по уровням противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10. В группе детей с РРЗ регистрировалось статистически значимое повышение содержания IL-4 (в 5,2 раза) и IL-10 (в 3,9 раза). Известно, что IL-10, будучи противовоспалительным цитокином, способствует ингибированию продукции IFN $\gamma$ , а его избыток приводит к персистенции инфекционных и вирусных патогенов. Кроме того, избыток IL-10 способствует подавлению синтеза показателей

гуморального иммунитета, что коррелирует в нашем исследовании со снижением локальной выработки иммуноглобулинов основных классов. IL-4 относится к цитокинам Th2-профиля иммунного ответа, подавляет образование высокоактивных метаболитов кислорода и азота, что также коррелирует у детей с РРЗ с угнетением микробицидности нейтрофилов. Таким образом, дисбаланс в системе локального синтеза провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, определяемый длительной персистенцией вирусов, приводит к ограничению выхода функционально полноценных нейтрофилов в бронхиальный секрет и формированию вторичных локальных фагоцитарных дисфункций, а также определяет угнетение микробицидности клеток и нарушение локального синтеза иммуноглобулинов [16, 17].

Таким образом, в нашем исследовании была проведена комплексная углубленная оценка состояния локального мукозального иммунитета у детей с ВП, протекающей на фоне РРЗ. При этом отмечен выраженный дисбаланс между различными функциональными характеристиками нейтрофильных гранулоцитов – наряду с депрессией выхода нейтрофилов у обследованных детей с РРЗ отмечен выраженный рост количества нейтрофилов с максимальными признаками деструкции ядра и цитоплазмы, выявлено угнетение цитотоксической активности нейтрофилов, проявляющееся снижением кислородозависимой биоцидности и угнетением интралейкоцитарной микробицидной системы с нарушением процессов дегрануляции. Установлено закономерное снижение активности МП, КФ, КБ, что обуславливает незавершенность фагоцитоза и хронизацию процесса. Угнетение син-

теза иммуноглобулинов, дисбаланс в системе локального синтеза провоспалительных и противовоспалительных цитокинов также являются важными факторами нарушений профиля локального мукозального иммунитета у детей с РРЗ. На фоне выявленных нарушений мукозального иммунитета отмечается более длительная динамика купирования основных клинико-рентгенологических симптомов ВП у детей с РРЗ, что дает научное обоснование целесообразности включения иммунокорректирующей терапии в комплекс лечения.

**Вклад авторов:** все авторы в равной степени внесли свой вклад в рукопись, рассмотрели ее окончательный вариант и дали согласие на публикацию.

**Финансирование:** все авторы заявили об отсутствии финансовой поддержки при подготовке данной рукописи.

**Конфликт интересов:** все авторы заявили об отсутствии конкурирующих интересов.

**Примечание издателя:** ООО «Педиатрия» остается нейтральным в отношении юрисдикционных претензий на опубликованные материалы и институциональных принадлежностей.

**Authors contribution:** all authors contributed equally to this manuscript, revised its final version and agreed for the publication.

**Funding:** all authors received no financial support for this manuscript.

**Competing interests:** the authors declare that they have no competing interests.

**Publisher's Note:** *Pediatrics LLC remains neutral with regard to jurisdictional claims in published materials and institutional affiliations.*

Malanicheva T.G.  0000-0002-7027-0319

Mizernitskiy Yu.L.  0000-0002-0669-2453

Agafonova E.V.  0000-0002-4411-8786

Mozhgina S.S.  0000-0002-2002-3889

## Литература

1. Мизерницкий Ю.Л. Пульмонология детского возраста: достижения, задачи и перспективы. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2014; 59 (2): 4–12.
2. Nairn H, Simoes EA, Rudon I, Gessner BD, Azziz-Baumgartner E, Zhang JSF, et al. Severe Acute Lower Respiratory Infections Working Group. Global and regional burden of hospital admission for severe acute lower respiratory infection in young children 2010: a systematic analysis. *Lancet*. 2013; 381 (9875): 138013–138090.
3. Eber E, Midulla F. *Paediatric Respiratory Medicine*. ERS. Handbook 1<sup>st</sup> European Respiratory Society, 2013: 719.
4. Генне Н.А., Малахов А.Б., Дронов И.А., Хабибуллина Е.А. Внебольничная пневмония у детей: проблемы диагностики, лечения и профилактики. Доктор. Ру. 2015; 13 (114): 28–30.
5. Лютина Е.И., Манеров Ф.К. Заболеваемость и смертность от внебольничной пневмонии у детей и подростков, проживающих в Кузбассе. *Педиатрия им. Г.Н. Сперанского*. 2015; 2 (94): 203–206.
6. Внебольничная пневмония у детей. Клинические рекомендации. М.: Оригинал-макет, 2015: 64.
7. Kendig and Chernick's Disorders of the respiratory tract in children. 8<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders, USA, 2012: 1142.
8. Матейко Г.Б., Пылюк И.И. Особенности клиники и факторы риска развития пневмонии у детей, часто болеющих острыми респираторными заболеваниями. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 8–1: 55–58.
9. Галимова Л.Ф., Пикуза О.И., Закирова А.М., Сулейманова З.Я. Особенности цитокинового профиля при внебольничной пневмонии у детей, вызванной атипичными возбудителями. *Репродуктивное здоровье детей и подростков*. 2017; 2: 56–64.
10. Мизерницкий Ю.Л., Кабулов Г.Г. Проблемы иммунологии в пульмонологии детского возраста (взгляд клинициста). *J. Azerb. Allergy Clin. Immunology*. 2013; 1: 36–41.
11. Маланичева Т.Г., Агафонова Е.В., Можина С.С. Особенности мукозального иммунитета у детей дошкольного возраста с внебольничной пневмонией, протекающей на фоне рекуррентных респираторных заболеваний. *Практическая медицина*. 2016; 7 (99): 68–73.
12. Generalova EV, Vahitov HM, Gayfullina RF, Rizvanova FF, Vahitova LF. Minimally Invasive Methods of Diagnosis of Bronchitis Severity in Children. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2016; 7 (6): 2879.
13. Маянский А.Н. Лекции по иммунологии. 2-е изд. Нижний Новгород: Издательство НГМА, 2005: 270.
14. Куличков В.И., Мизерницкий Ю.Л., Рыбакова О.Г., Минина Е.Е., Жаков Я.И. Способ получения индуцированной мокроты у детей для оценки степени и характера воспаления слизистой бронхов. Патент 2364341 Российская Федерация МПК А 61. В 10/00, G 01, N33,53. № 2008116364; Заявка 24.04.2008; опубл. 20.08.2009, Бюлл. № 23. 10 с.
15. Матвеева Л.А. Местная защита респираторного тракта у детей. Томск: Издательство Томского университета, 1993: 276.
16. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2008: 552.
17. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. М.: ВНИРО, 1995: 219.