

## ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Устьянцева Л.С., Шамова К.П.,  
Бычкова С.В., Боцьковская М.А., Газиева И.А.

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

**Резюме.** С целью оценки показателей иммунитета детей, рожденных в сроке сверхранних преждевременных родов (22-27 недель), с бронхолегочной дисплазией (БЛД) различной степени тяжести, проведено динамическое обследование 35 новорожденных: 17 детей с БЛД тяжелой степени, 18 – БЛД легкой и среднетяжелой степени тяжести. Группу сравнения составили 7 детей 22-27 недель гестационного возраста без БЛД. Методом проточной цитометрии определяли количество лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>) и моноцитов (CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>), методом иммуноферментного анализа определяли уровень цитокинов (IL-6, IL-8, IL-4). Выявлены особенности иммунного статуса детей с БЛД тяжелой, легкой и среднетяжелой степени тяжести. Установлено, что предикторами формирования БЛД тяжелой степени у детей, рожденных от сверхранних преждевременных родов, являются повышенное содержания IL-8 при рождении и в возрасте 1 месяца жизни, сниженный уровень экспрессии на моноцитах (CD64, HLA-DR) по достижению 1 месяца жизни и CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> клеток в 38-40 недель постконцептуального возраста.

Выявленные особенности иммунного статуса у новорожденных с БЛД могут быть использованы для оценки эффективности проводимой терапии, что диктует необходимость проведения дальнейших исследований.

**Ключевые слова:** недоношенные дети, бронхолегочная дисплазия, адаптивный иммунитет, врожденный иммунитет

## FEATURES OF IMMUNE RESPONSE IN PRETERM BABIES WITH BRONCHOPULMONARY DISPLASIA OF VARIOUS SEVERITY

Chistyakova G.N., Remizova I.I., Ustyantseva L.S., Shamova K.P.,  
Bychkova S.V., Botskovskaya M.A., Gazieva I.A.

Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Ekaterinburg, Russian Federation

**Abstract.** To evaluate the immunity indexes in the children who were born with bronchopulmonary dysplasia (BPD) of varying severity at very early delivery terms (22-27 weeks), dynamic examinations were performed

**Адрес для переписки:**

Ремизова Ирина Ивановна  
ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ  
620089, Россия, г. Екатеринбург, ул. Родонитовая, 3/1-45.  
Тел.: 8 (343) 371-28-30.  
E-mail: RemizovaII@yandex.ru

**Address for correspondence:**

Remizova Irina I.  
Ural Research Institute for Maternal and Child Care  
620089, Russian Federation, Ekaterinburg,  
Rodonitovaya str., 3/1-45.  
Phone: 7 (343) 371-28-30.  
E-mail: RemizovaII@yandex.ru

**Образец цитирования:**

Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, Л.С. Устьянцева, К.П. Шамова, С.В. Бычкова, М.А. Боцьковская, И.А. Газиева «Особенности иммунного ответа недоношенных детей с бронхолегочной дисплазией различной степени тяжести» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 3. С. 517-526.  
doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-517-526  
© Чистякова Г.Н. и соавт., 2019

**For citation:**

G.N. Chistyakova, I.I. Remizova, L.S. Ustyantseva, K.P. Shamova, S.V. Bychkova, M.A. Botskovskaya, I.A. Gazieva "Features of immune response in preterm babies with bronchopulmonary displasia of various severity", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2019, Vol. 21, no. 3, pp. 517-526.  
doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-517-526  
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-3-517-526

in 35 infants: 17 children were with severe BPD; 18, with mild-severity and moderately severe BPD. The comparison group consisted of seven children born at 22–27 weeks of gestational age without signs of BPD. Relative numbers of lymphocyte subpopulations (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>), and monocytes (CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>) were determined by flow cytometry. The level of cytokines (IL-6, IL-8, IL-4) was measured by enzyme immunoassay technique. The features of immune status in children with BPD of severe, mild and moderate severity were discerned. It was found that the predictors of severe BPD development in the children born at very early terms, are: increased content of IL-8 at birth and at the age of 1 month, reduced level of expression on monocytes (CD64, HLA-DR) on the 1 month of life, and CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> cells at 38–40 weeks post conception. The revealed features of immune status in newborns with BPD can be used to assess the effectiveness of the therapy, which requires further research in this direction.

*Keywords: extremely low body weight, bronchopulmonary dysplasia, adaptive immunity, innate immunity*

## Введение

По мере увеличения выживаемости детей, родившихся с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ), значимое влияние на состояние их здоровья и качества жизни стала оказывать бронхолегочная дисплазия (БЛД) — заболевание легких, обусловленное нарушением роста и развития альвеол и сосудов малого круга кровообращения [9], имеющее исходы от клинического выздоровления до высокой летальности (11–36%) в первый год жизни [7]. По данным Лебедевой О.В., частота БЛД у недоношенных детей, родившихся с экстремально низкой массой тела, достигает 46,6% [5]. К моменту выписки из стационара большая часть детей с тяжелой БЛД имеют сопутствующие заболевания, обусловленные перинатальным поражением центральной нервной системы (ЦНС), зрения, слуха и других органов и систем, а к годовалому возрасту имеют нарушения в психомоторном развитии и составляют группу риска по формированию обструктивной болезни легких [8, 12]. Общий уровень инвалидизации детей достаточно высок.

Иммунная система является одной из самых уникальных систем организма, обладающих способностью быстро реагировать на различные патогены и регулировать функции систем гомеостаза при патологических процессах, что определяет выживание недоношенного ребенка, особенности течения постнатального периода жизни, эффективность лечебных и реабилитационных мероприятий.

Однако источников, содержащих информацию о факторах врожденного и адаптивного иммунитета, определяющих формирование БЛД, влияющих на тяжесть течения и исход заболевания, крайне мало, что и послужило целью настоящего исследования.

**Цель исследования** — оценка показателей врожденного и адаптивного иммунитета пуповинной и периферической крови детей, рожденных в сроке сверхранних преждевременных родов, в зависимости от степени тяжести БЛД,

сформировавшейся к постконцептуальному возрасту 38–40 недель.

## Материалы и методы

Проспективное исследование включало в себя оценку иммунологических показателей пуповинной и периферической крови детей, родившихся в сроке сверхранних преждевременных родов (22–27 недель). Дети с БЛД в ходе исследования были подразделены на группы в зависимости от степени тяжести: 17 детей с БЛД тяжелой степени (1-я группа), 18 детей с БЛД легкой и среднетяжелой степени тяжести (2-я группа). Группу сравнения (3-я группа) составили 7 детей 22–27 недель гестационного возраста без БЛД. Проведение данного исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «Уральский НИИ ОММ» Минздрава России. От всех матерей нами были получены информированные добровольные согласия на обработку персональных данных, лечение, обследование и забор биологического материала у детей.

Иммунофенотипирование лимфоцитов и моноцитов осуществляли методом проточной лазерной цитофлуориметрии на анализаторе FACS Calibur фирмы Becton Dickinson (США) с использованием наборов моноклональных антител того же производителя, конъюгированных с флуоросцеин-изотиоцианатом (FITC) и фикоэритрином (PE). Определяли количество субпопуляций лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>) и активированных моноцитов (CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>). Уровень цитокинов (IL-6, IL-8, IL-4) оценивали методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческих тест-систем «Вектор-Бест» (Россия). Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакетов прикладных программ Excel и Statistica 6. Проверку на нормальность распределения статистических показателей проводили с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. При соответствии данных нормальному распределению значения количественных признаков представляли в виде

$M \pm SD$ , где  $M$  – среднее значение количественного признака,  $SD$  – стандартное отклонение среднего. Различия между группами устанавливали при помощи критерия  $\chi^2$  (качественные), критерия Стьюдента (количественные). При отклонении распределения от нормального данные представляли в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей ( $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$ ). Сравнение количественных признаков проводили с использованием U-критерия Манна–Уитни. Уровень значимости межгрупповых различий с учетом поправки Бонферрони принимали равным 0,017. При  $0,05 < p < 0,017$  констатировали тенденцию к изменению параметров.

## Результаты

Дети от сверхранних преждевременных родов с БЛД тяжелой степени имели меньший гестационный возраст ( $25,4 \pm 1,53$  против  $26,2 \pm 0,88$  и  $26,57 \pm 0,53$  недель соответственно,  $p_{1-2} = 0,04$ ;  $p_{1-3} = 0,01$ ) и массу тела при рождении ( $751,1 \pm 119,4$  г против  $844,17 \pm 96,5$  г и  $968,57 \pm 33,38$  г соответственно,  $p_{1-2} = 0,01$ ,  $p_{1-3, 2-3} = 0,0001$ ).

При исследовании пуповинной крови детей с БЛД, родившихся в сроке сверхранних преждевременных родов, обнаружено статистически значимое повышение абсолютного количества лейкоцитов (табл. 1).

Абсолютный лимфоцитоз достоверно чаще наблюдался у детей с БЛД тяжелой степени ( $p_{1-2} = 0,015$ ,  $p_{1-3} = 0,013$ ). Также в этой группе детей содержание лимфоцитов  $CD3^+$ ,  $CD19^+$  и процентное содержание НК-клеток существенно превышало показатели детей с легкой и среднетяжелой степенью БЛД и детей без БЛД ( $p_{1-2} = 0,047$ ,  $p_{1-3} = 0,008$ ;  $p_{1-2} = 0,02$ ,  $p_{1-3} = 0,01$ ;  $p_{1-2, 1-3} = 0,010$ ), что указывало на активацию Т- и В-клеточного звена иммунитета, а также на повышение цитотоксического потенциала. Необходимо отметить, что у детей 2-й группы наблюдалось повышение абсолютного количества  $CD4^+$  клеток ( $p_{1-2} = 0,014$ ,  $p_{2-3} = 0,017$ ).

Ввиду несостоятельности адаптивного иммунитета ребенка раннего возраста основные защитные функции выполняют клетки моноцитарно-макрофагального звена. Статистически значимых различий в уровне экспрессии маркеров активации моноцитов у детей иссле-

**ТАБЛИЦА 1. ПОПУЛЯЦИОННЫЙ И СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С БЛД,  $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$**

TABLE 1. POPULATION AND SUBPOPULATION OF LYMPHOCYTES OF UMBILICAL CORD BLOOD OF PREMATURE INFANTS WITH BPD,  $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$

Показатели Parameters	1-я группа Group 1 (n = 17)	2-я группа Group 2 (n = 18)	3-я группа Group 3 (n = 7)
Лейкоциты, $10^9/l$ Leukocytes, $10^9/l$	7,0 (6,4-12,0)*	11,85 (7,15-17,45)**	5,0 (3,78-6,40)
Лимфоциты, $10^9/l$ Lymphocytes, $10^9/l$	5,1 (3,83-9,20)**^^	3,44 (3,09-3,69)	3,38 (2,38-3,55)
$CD3^+$ , $10^9/l$ $10^9/l$	2,24 (1,85-3,94)**^	1,42 (1,31-1,78)	1,31 (1,02-1,36)
$CD19^+$ , $10^9/l$ $10^9/l$	1,06 (0,25-1,46)**^	0,29 (0,22-0,44)	0,43 (0,33-0,49)
$CD4^+$ , $10^9/l$ $10^9/l$	1,7 (0,8-2,3)	1,31 (1,13-1,54)**^^	0,78 (0,63-0,93)
$CD8^+$ , $10^9/l$ $10^9/l$	0,54 (0,30-1,34)	0,45 (0,38-0,48)	0,28 (0,22-0,46)
$CD16^+CD56^+$ , %	8,0 (4,0-10,0)**^^	3 (2,5-3,5)**	2,0 (2,0-3,0)
$CD25^+CD4^+$ , $10^9/l$ $10^9/l$	0,19 (0,06-0,25)**	0,19 (0,10-0,28)**	0,09 (0,03-0,11)

Примечание. 1-я группа – недоношенные новорожденные с БЛД тяжелой степени; 2-я группа – недоношенные новорожденные с БЛД легкой и умеренной степени; 3-я группа – недоношенные новорожденные без БЛД; \*\* – различия статистически значимы с 3-й группой; ^^ – различия статистически значимы между 1-й и 2-й группами (критерий Манна–Уитни) –  $p < 0,017$ ; \* ^ – различия значимы на уровне тенденции –  $p < 0,05$ .

Note. 1<sup>st</sup> group, premature newborns with severe BPD; 2<sup>nd</sup> group, premature neonates with BPD of mild and moderate degree; 3<sup>rd</sup> group, premature neonates without BPD; \*\*, the differences are statistically significant with the 3<sup>rd</sup> group; ^^, the D-differences are statistically significant between the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> groups (the Mann–Whitney test) –  $p < 0.017$ ; \* ^, the differences are significant at the level of the trend –  $p < 0.05$ .

**ТАБЛИЦА 2. МАРКЕРЫ АКТИВАЦИИ МОНОЦИТОВ И УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С БЛД, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

**TABLE 2. MARKERS OF MONOCYTE ACTIVATION AND CYTOKINE LEVEL OF UMBILICAL CORD BLOOD OF PREMATURE INFANTS WITH BPD, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

Показатели Parameters	1-я группа Group 1 (n = 17)	2-я группа Group 2 (n = 18)	3-я группа Group 3 (n = 7)
CD14 <sup>+</sup> CD64 <sup>+</sup> , %	17,5 (7,75-38,25)	17 (12-32)	28,5 (20,25-36,75)
CD14 <sup>+</sup> CD64 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /L	0,09 (0,04-0,22)	0,05 (0,04-0,15)	0,29 (0,16-0,41)
CD14 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , %	23,0 (14,25-29,00)	21 (10-61)	11 (7-22)
CD14 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /L	0,10 (0,09-0,31)	0,05 (0,04-0,13)	0,06 (0,04-0,19)
IL-6, пг/мл pg/ml	120,43 (12,60-160,78)*	110,3 (20,75-166,05)*	16,5 (12,01-61,15)
IL-8, пг/мл pg/ml	85,32 (70,76-120,80)**	131,1 (79,42-172,40)**	46,32 (39,03-53,29)
IL-4, пг/мл pg/ml	0,74 (0,48-0,87)	0,48 (0,22-0,80)	0,61 (0,42-0,84)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

**ТАБЛИЦА 3. ПОКАЗАТЕЛИ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С БЛД В 1 МЕСЯЦ ЖИЗНИ, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

**TABLE 3. PARAMETERS OF ADAPTIVE IMMUNITY OF PERIPHERAL BLOOD OF PREMATURE INFANTS WITH BPD IN 1 MONTH OF LIFE, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

Показатели Parameters	1-я группа Group 1 (n = 17)	2-я группа Group 2 (n = 18)	3-я группа Group 3 (n = 7)
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л Leukocytes, 10 <sup>9</sup> /L	10,9 (9,8-14,1)	10,21 (7,95-11,42)	8,15 (7,63-9,64)
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л Lymphocytes, 10 <sup>9</sup> /L	3,43 (1,93-4,35)*	4,42 (3,35-6,12)	4,93 (4,44-5,89)
CD3 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /L	2,39 (1,21-2,47)	2,12 (1,56-3,14)	2,32 (2,18-2,38)
CD19 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /л	0,26 (0,22-0,50)	0,49 (0,17-0,65)	0,77 (0,57-0,81)
CD4 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /L	1,82 (0,37-1,83)	1,24 (1,18-2,21)	1,79 (1,65-1,86)
CD8 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /L	0,72 (0,54-0,83)	0,94 (0,55-1,16)*	0,62 (0,50-0,64)
CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> , %	17 (10-18)	10 (7,0-15,5)	11 (10,5-11,0)
CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /L	0,17 (0,08-0,19)	0,21 (0,17-0,42)	0,29 (0,24-0,30)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

дуремых групп не выявлено. Тем не менее у недоношенных детей с БЛД, вне зависимости от степени тяжести данной патологии, отмечалось статистически значимое повышение уровня IL-8 ( $p_{1-3,2-3} = 0,015$ ) и увеличение на уровне тенденции IL-6 ( $p_{1-3} = 0,03$ ;  $p_{2-3} = 0,05$ ) (табл. 2).

Согласно результатам динамического наблюдения у новорожденных обеих групп с БЛД к 28-м суткам жизни происходила нормализации параметров адаптивного иммунитета (табл. 3). Тем не менее, на уровне тенденции, у детей 1-й группы отмечалось снижение абсолютного коли-

чества лимфоцитов ( $p_{1-3} = 0,03$ ), у детей 2-й группы – повышение числа  $CD8^+$  клеток ( $p_{2-3} = 0,04$ ).

При сравнении показателей врожденного иммунитета детей от сверхранних преждевременных родов, вне зависимости от степени тяжести БЛД, выявлено статистически значимое снижение относительного количества  $HLA-DR^+$  моноцитов ( $p_{1-3, 2-3} = 0,01$ ) и уменьшение числа  $CD14^+CD64^+$  клеток ( $p_{1-3} = 0,007$ ,  $p_{1-2} = 0,004$ ) у детей с тяжелой формой заболевания (табл. 4). У новорожденных с БЛД тяжелой степени сохранялось статистически значимое повышение уровня ИЛ-8 в отличие от детей с легкой и среднетяжелой формой заболевания ( $p_{1-3} = 0,010$ ,  $p_{2-3} = 0,03$ ).

К постконцептуальному возрасту (ПКВ) 38-40 недель в периферической крови детей с тяжелой степенью БЛД на фоне повышенного процентного содержания НК-клеток ( $p_{1-3} = 0,01$ ) регистрировалось снижение абсолютного количества  $CD3^+$  и  $CD4^+$  лимфоцитов относительно показателей детей без БЛД ( $p_{1-3} = 0,025$ ,  $p_{1-3} = 0,01$ ) (табл. 5).

При исследовании маркеров активации моноцитов периферической крови в этой группе детей сохранялось снижение экспрессии  $CD64^+$  ( $p_{1-2} = 0,01$ ,  $p_{1-3} = 0,03$ ) моноцитами крови по сравнению с показателями детей, имеющих легкую и среднюю степень и детей без БЛД того же гестационного возраста (табл. 6). Содержание провоспалительных и регуляторных цитокинов в сыворотке периферической крови у всех недоношенных детей с БЛД, по достижении ПКВ

38-40 недель, не отличалось от показателей детей без БЛД.

## Обсуждение

Одними из основных факторов риска развития БЛД являются масса тела и срок гестации. В основе многофакторной этиологии БЛД лежит гипоксия, внутриутробные инфекции, сопутствующая патология, дефицит сурфактанта, гипероксигенация организма, которые приводят к развитию и прогрессированию воспалительного процесса, а также оказывают повреждающее действие на сосудисто-капиллярную сеть, включая сосуды легких.

Согласно мнению многих авторов, развивающаяся воспалительная реакция при бронхолегочной дисплазии вследствие повреждения легочной ткани является результатом иммунопатологических процессов, протекающих на системном и локальном уровнях [1, 4, 9]. В литературе имеются сведения, что для бронхолегочной дисплазии не характерна выраженная иммуносупрессия по клеточному типу. В результате проведенного динамического исследования у недоношенных детей в возрасте от 1 месяца до 3-х лет Мустафаевым И.А. и соавт. установлено отсутствие статистически значимых изменений в содержании основных популяций лимфоцитов в фазе обострения и фазе ремиссии, за исключением сниженного процентного содержания  $CD3^+$  клеток [6]. Аналогичные данные получены при проведении настоящего исследования. Установ-

**ТАБЛИЦА 4. МАРКЕРЫ АКТИВАЦИИ МОНОЦИТОВ И УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С БЛД В 1 МЕСЯЦ ЖИЗНИ, Ме ( $Q_{0,25}-Q_{0,75}$ )**

TABLE 4. MARKERS OF MONOCYTE ACTIVATION AND CYTOKINE LEVEL OF PERIPHERAL BLOOD OF PREMATURE INFANTS WITH BPD IN 1 MONTH OF LIFE, Me ( $Q_{0,25}-Q_{0,75}$ )

Показатели Parameters	1-я группа Group 1 (n = 17)	2-я группа Group 2 (n = 18)	3-я группа Group 3 (n = 7)
$CD14^+CD64^+$ , %	17,5 (13,8-22,5)	39 (20,3-55,0)	41 (22-60)
$CD14^+CD64^+$ , $10^9/л$ $10^9/l$	0,15 (0,05-0,24) <sup>***^A</sup>	0,31 (0,28-0,48)	0,53 (0,28-0,79)
$CD14^+HLA-DR^+$ , %	64 (59-69) <sup>**</sup>	65 (44,5-77,0) <sup>**</sup>	84 (76,5-87,5)
$CD14^+HLA-DR^+$ , $10^9/л$ $10^9/l$	0,88 (0,79-0,92)	0,9 (0,67-0,97)	1,45 (1,05-1,56)
ИЛ-6, пг/мл pg/ml	4,69 (4,35-10,29)	5,63 (4,88-6,12)	5,1 (4,20-5,94)
ИЛ-8, пг/мл pg/ml	30,63 (21,25-41,42) <sup>**</sup>	27,07 (25,56-31,33) <sup>*</sup>	15,8 (12,35-18,75)
ИЛ-4, пг/мл pg/ml	1,39 (0,73-2,66)	1,74 (1,42-1,79)	0,0 (0,00-1,13)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

**ТАБЛИЦА 5. ПОКАЗАТЕЛИ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С БЛД В ПКВ 38-40 НЕДЕЛЬ, Ме (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 5. PARAMETERS OF ADAPTIVE IMMUNITY OF PERIPHERAL BLOOD OF PREMATURE INFANTS WITH BPD IN PCA 38-40 WEEKS, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Показатели Parameters	1-я группа Group 1 (n = 17)	2-я группа Group 2 (n = 18)	3-я группа Group 3 (n = 7)
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л Leukocytes, 10 <sup>9</sup> /l	8,6 (7,70-8,95)	7,11 (5,57-8,54)	6,71 (6,48-7,57)
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л Lymphocytes, 10 <sup>9</sup> /l	4,19 (3,24-4,74)	4,54 (4,12-5,18)	4,32 (3,95-4,67)
CD3 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /l	1,74 (1,52-2,53)*	2,05 (1,75-2,87)	2,36 (2,32-2,41)
CD19 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /l	1,07 (0,49-1,48)	1,24 (0,60-1,53)	0,68 (0,60-0,91)
CD4 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /l	1,05 (0,84-1,57)**	1,44 (1,13-1,72)	1,71 (1,63-1,76)
CD8 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /l	0,61 (0,43-0,94)	0,67 (0,53-0,78)	0,70 (0,66-0,75)
CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> , %	22,0 (10,5-24,5)**	12,0 (8,5-16,5)	8,5 (7,3-10,0)
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /l	0,19 (0,11-0,24)	0,18 (0,15-0,23)	0,19 (0,18-0,21)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1

**ТАБЛИЦА 6. МАРКЕРЫ АКТИВАЦИИ МОНОЦИТОВ И УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С БЛД В ПКВ 38-40 НЕДЕЛЬ, Ме (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 6. MARKERS OF MONOCYTE ACTIVATION AND CYTOKINE LEVEL OF PERIPHERAL BLOOD OF PREMATURE INFANTS WITH BPD IN PCA 38-40 WEEKS, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Показатели Parameters	1-я группа Group 1 (n = 17)	2-я группа Group 2 (n = 18)	3-я группа Group 3 (n = 7)
CD14 <sup>+</sup> CD64 <sup>+</sup> , %	27 (16,3-42,5)**^^	50 (35,3-65,0)	63,5 (47,5-73,3)
CD14 <sup>+</sup> CD64 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /l	0,24 (0,12-0,27)	0,27 (0,12-0,41)	0,23 (0,22-0,45)
CD14 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , %	70,5 (62,5-78,5)	74,0 (64,8-83,0)	80,5 (78,15-82,00)
CD14 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л 10 <sup>9</sup> /l	0,49 (0,39-0,56)	0,46 (0,35-0,60)	0,40 (0,38-0,57)
IL-6, пг/мл pg/ml	3,91 (3,77-4,80)	3,78 (2,46-4,35)	2,75 (2,36-2,97)
IL-8, пг/мл pg/ml	16,72 (10,75-31,18)	13,2 (12,99-25,40)	15,5 (12,80-17,75)
IL-4, пг/мл pg/ml	2,7 (2,10-2,93)	1,82 (1,72-2,10)	20,5 (1,89-2,70)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

лено, что показатели адаптивного звена иммунитета у всех недоношенных детей с БЛД в возрасте 1 месяца жизни были сопоставимы с параметрами детей без БЛД. Снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов и Т-хелперов регистрировалось к ПКВ 38-40 недель при тяжелой степени

БЛД. Выявленная активация лимфоцитов в пуповинной крови (повышение абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> клеток в этой группе детей, вероятно, обусловлена влиянием неблагоприятных факторов в антенатальном периоде.

В показателях врожденного иммунитета установлен неонатальный дефект функциональной активности моноцитов, проявляющийся в снижении уровня экспрессии рецепторов HLA-DR<sup>+</sup> и CD64<sup>+</sup> у детей с тяжелой степенью БЛД ( $p_{1-3} = 0,01$ ,  $p_{2-3} = 0,01$ ). Данный факт, по-видимому, обусловлен повышенным процентом случаев инфекционно-воспалительных заболеваний в данных группах (сепсис – 47,1 против 33,3 и 28,6%,  $p_{1-2}, 1-3 > 0,05$ ; пневмония – 88,2 против 50 и 28,6%,  $p_{1-2} = 0,027$ ,  $p_{1-3} = 0,026$ ;). Необходимо отметить выявленные нами положительные связи между низким количеством активированных HLA-DR-моноцитов в пуповинной крови с развитием сепсиса у недоношенных детей ( $r = 0,73$ ;  $p = 0,004$ ), что согласуется с литературными данными, свидетельствующими о высокой предикторной значимости данного маркера в диагностике этой патологии [19].

При этом сниженный уровень экспрессии HLA-DR-моноцитами периферической крови, выявленный в возрасте 1 месяца жизни, положительно коррелировал с наличием пневмонии ( $r = 0,48$ ;  $p = 0,03$ ) и формированием тяжелой формы БЛД ( $r = 0,52$ ;  $p = 0,018$ ). Аналогичные результаты, демонстрирующие снижение экспрессии HLA-DR на моноцитах, были получены у новорожденных при инфекционной патологии, респираторных нарушениях [3, 14], при обострении БЛД по пневмоническому типу [2].

Существуют данные о формировании БЛД как результата дисбаланса провоспалительных и регуляторных механизмов, выделяющие доминирующую роль провоспалительных цитокинов и подчеркивающие недостаточную активность регуляторных. Как свидетельствуют литературные источники, повышенные концентрации цитокинов обнаруживаются в аспирате трахеи и сыворотке детей с респираторным дистресс-синдромом и впоследствии с БЛД. Эти цитокины могут инициировать или стимулировать воспалительный каскад и тем самым предрасполагать к развитию БЛД [11, 17].

Результаты исследования Rocha G. и соавт. (2012) демонстрируют существование ассоциаций между повышенным уровнем IL-8 и низким содержанием IL-6, IL-10 в пуповинной крови детей с БЛД среднетяжелой и тяжелой степени [18].

Проведенные нами исследования пуповинной крови детей с БЛД показали повышенную продукцию IL-8 при рождении вне зависимости от степени тяжести данного заболевания. Необходимо отметить сохранение статистически значимых различий в повышенной концентрации IL-8 у детей с БЛД тяжелой степени в возрасте 1 месяца жизни, что, по-видимому, является следствием перенесенной при рождении пневмонии,

а также обусловлено наличием воспаления респираторной ткани при развитии заболевания. При проведении корреляционного анализа обнаружены положительные связи между уровнем IL-8 и наличием перенесенной пневмонии в неонатальном периоде ( $r = 0,57$ ;  $p = 0,03$ ), что косвенно подтверждает полученные нами данные.

В отличие от результатов, полученных Rocha G. и соавт. (2012), свидетельствующих о снижении уровня IL-6 в пуповинной крови детей с БЛД тяжелой степени, в проведенном нами исследовании отмечалось его повышение на уровне тенденции. Некоторые авторы связывают высокие уровни IL-6 при рождении с развитием синдрома воспалительной реакции плода и неблагоприятным неонатальным исходом [13], ранними пери/интравентрикулярными кровоизлияниями [15] и сепсисом у недоношенных детей [16]. По нашему мнению, повышение уровня IL-6 в пуповинной крови может явиться следствием перенесенной гипоксии, внутриутробной инфекции [10].

К ПКВ 38-40 недель уровень IL-6 и IL-8 не отличался от аналогичных значений детей без БЛД, что, возможно, является результатом проведенной антибактериальной терапии.

Таким образом, состояние иммунной системы недоношенных детей с БЛД тяжелой степени характеризуется активацией адаптивного (увеличение количества лимфоцитов и CD3<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> субпопуляций) и врожденного (NK-клетки, IL-8) иммунитета при рождении; при прогрессировании заболевания в возрасте 1 месяца жизни – сниженной способностью моноцитов к адгезии и презентации антигенов (CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>), повышенным уровнем IL-8 при рождении и в возрасте 1 месяца жизни; к ПКВ 38-40 недель – уменьшением количества Т-лимфоцитов, Т-хелперов, снижением экспрессии рецептора CD64<sup>+</sup> моноцитами, при повышенном количестве натуральных киллеров и лейкоцитов.

У детей с легкой и среднетяжелой степенью БЛД имеет место повышение количества лейкоцитов, CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> клеток, а также уровня IL-8 пуповинной крови.

Установлено, что предикторами БЛД тяжелой степени у детей, рожденных от сверхранних преждевременных родов, является повышенное содержания IL-8 при рождении и в возрасте 1 месяца, сниженный уровень экспрессии на моноцитах рецепторов CD64, HLA-DR по достижении 1 месяца и CD64 в 38-40 недель ПКВ.

Выявленные особенности иммунного статуса у новорожденных с БЛД могут быть использованы для оценки эффективности проводимой терапии, что диктует необходимость проведения дальнейших исследований.

## Список литературы / References

1. Батман Ю.А., Натрус Л.В., Павлюченко В.В., Мельник А.В. Изучение патогенетических механизмов формирования иммунологического ответа у недоношенных детей с бронхолегочной дисплазией // Меди-ко-социальные проблемы семьи, 2013. Т. 18, № 2. С. 85-90. [Batman Yu.A., Natrus L.V., Pavlyuchenko V.V., Melnik A.V. Study of the pathogenetic mechanisms of immunological response in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia. *Mediko-sotsialnye problemy semyi = Medical and Social Problems of the Family*, 2013, Vol. 18, no. 2, pp. 85-90. (In Russ.)]
2. Боровская Т.Ф., Курпас Э.Х., Гусева О.Е., Ефименко М.В., Козлов В.К., Пичуева Е.В., Гандуров С.Г. Особенности иммунного статуса и цитокинового профиля у детей с бронхолегочной дисплазией при различных вариантах обострения // Бюллетень физиологии и патологии дыхания, 2005. № 21. С. 69-72. [Borovskaya T.F., Kurpas E.Kh., Guseva O.E., Efimenko M.V., Kozlov V.K., Pichueva E.V., Gandurov S.G. Immune status and cytokine profile peculiarities in children with broncho-pulmonary dysplasia with different degrees of exacerbation. *Byulleten fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration*, 2005, no. 21, pp. 69-72. (In Russ.)]
3. Дударева М.В., Линде В.А. Патогенетическая роль цитотоксических лимфоцитов у доношенных новорожденных с респираторным дистресс-синдромом // Журнал фундаментальной медицины и биологии, 2013. № 4. С. 22-25. [Dudareva M.V., Linde V.A. Peculiarities of inborn immunity in newborns with respiratory distress and with artificial lung ventilation. *Zhurnal fundamentalnoy meditsiny i biologii = Journal of Fundamental Medicine and Biology*, 2013, no. 4, pp. 22-25. (In Russ.)]
4. Каракушикова К.В., Рахимова К.В., Абдуллаева Г.М. Особенности иммунного статуса недоношенных детей с перинатальной патологией в раннем неонатальном периоде // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского, 2012. Т. 91, № 1. С. 20-25. [Karakushikova A.S., Rakhimova K.V., Abdullaeva G.M. Features of the immune status of preterm infants with perinatal pathology in the early neonatal period. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo = Pediatrics. G. Speransky Journal*, 2012, Vol. 91, no. 1, pp. 20-25. (In Russ.)]
5. Лебедева О.В. Факторы риска формирования бронхолегочной дисплазии у новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении // Педиатрическая фармакология, 2014. Т. 14, № 3. С. 37-41. [Lebedeva O.V., Cherkasov N.S. Clinical and immunological aspects of severe bronchopulmonary dysplasia in newborns with very low and extremely low birth weight. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2014, Vol. 14, no. 3, pp. 37-41. (In Russ.)]
6. Мустафаев И.А., Аллахвердиева Л.И., Богданова А.В. Иммунный статус при бронхолегочной дисплазии // Казанский медицинский журнал, 2016. Т. 97, № 3. С. 346-350. [Mustafaev I.A., Allakhverdiyeva L.I., Bogdanova A.V. Immune status in bronchopulmonary dysplasia. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal*, 2016, Vol. 97, no. 3, pp. 346-350. (In Russ.)]
7. Овсянников Д.Ю., Комлева Н.А., Оболадзе Т.Б., Маркарян О.В., Кузьменко Л.Г. Современные алгоритмы диагностики бронхолегочной дисплазии // Вопросы диагностики в педиатрии, 2011. Т. 3, № 1. С. 12-20. [Ovsyannikov D.Yu., Komleva N.A., Oboladze T.B., Markaryan O.V., Kuzmenko L.G. Modern algorithms for diagnostics of bronchopulmonary dysplasia. *Voprosy diagnostiki v pediatrii = Pediatric Diagnostics*, 2011, Vol. 3, no. 1, pp. 12-20. (In Russ.)]
8. Овсянников Д.Ю. Бронхолегочная дисплазия: естественное развитие, исходы и контроль // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского, 2011. Т. 90, № 1. С. 141-150. [Ovsyannikov D.Yu. Bronchopulmonary dysplasia: natural development, outcomes and control. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo = Pediatrics. G. Speransky Journal*, 2011, Vol. 90, no. 1, pp. 141-150. (In Russ.)]
9. Панченко А.С., Гаймоленко И.Н., Тихоненко А.В., Игнатьева А.В. Бронхолегочная дисплазия у детей: клиника, диагностика, исходы // ЭНИ Забайкальский медицинский вестник, 2013. № 1. С. 175-183. [Panchenko A.S., Gaymolenko I.N., Tikhonenko A.V., Ignatyeva A.V. Bronchopulmonary dysplasia in children: clinical features, diagnosis, outcomes. *ENI Zabaykalskiy meditsinskiy vestnik = Transbaikal Medical Journal*, 2013, no. 1, pp. 175-183. (In Russ.)]
10. Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Газиева И.А., Бычкова С.В., Занина Е.В., Чарипова Б.Т. Про- и противовоспалительные медиаторы у новорожденных с перинатальной патологией // Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2014. № 2. С. 66-70. [Chistyakova G.N., Remizova I.I., Gazieva I.A., Bychkova S.V., Zanina E.V., Charipova B.T. Pro- and anti-inflammatory mediators in neonates with perinatal pathology. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2014, no. 2, pp. 66-70. (In Russ.)]
11. Ambalavanan N., Carlo W.A., d'Angio C.T., McDonald S.A., Das A., Schendel D., Thorsen P., Higgins R.D. Cytokines associated with bronchopulmonary dysplasia or death in extremely low birth weight infants. *Pediatrics*, 2009, Vol. 123, no. 4, pp. 1132-1141.
12. Bhandari A., McGrath-Morrow S. Long-term pulmonary outcomes of patients with bronchopulmonary dysplasia. *Semin. Perinatol.*, 2013, Vol. 37, no. 2, pp. 132-137.
13. Hofer N., Kothari R., Morris N., Müller W., Resch B. The fetal inflammatory response syndrome is a risk factor for morbidity in preterm neonates. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2013, Vol. 209, no. 6, p. 542.

14. Juskewitch J.E., Abraham R.S., League S.C., Jenkins S.M., Smith C.Y., Enders F.T., Grebe S.K., Carey W.A., Huskins W.C. Monocyte HLA-DR expression and neutrophil CD64 expression as biomarkers of infection in critically ill neonates and infants. *Pediatr. Res.*, 2015, Vol. 78, no. 6, pp. 683-690.
15. Khosravi N., Badamchi A., Khalesi N., Tabatabaee A., Naghdalipour M., Asgarian R. Measurement of interleukin-6 (IL-6) and erythropoietin (EPO) in umbilical cords of preterm infants with intraventricular hemorrhage in two hospitals in Tehran. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*, 2017, Vol. 30, no. 15, pp. 1847-1850.
16. Nakstad B. The diagnostic utility of procalcitonin, interleukin-6 and interleukin-8, and hyaluronic acid in the Norwegian consensus definition for early-onset neonatal sepsis (EONS). *Infect. Drug Resist.*, 2018, no. 11, pp. 359-368.
17. Paananen R., Husa A.K., Vuolteenaho R., Herva R., Kaukola T., Hallman M. Blood cytokines during the perinatal period in very preterm infants: relation-ship of inflammatory response and bronchopulmonary dysplasia. *J. Pediatr.*, 2009, Vol. 154, no. 1, pp. 39-43.
18. Rocha G., Proença E., Guedes A., Carvalho C., Areias A., Ramos J.P., Rodrigues T., Guimarães H. Cord blood levels of IL-6, IL-8 and IL-10 may be early predictors of bronchopulmonary dysplasia in preterm newborns small for gestational age. *Disease Markers*, 2012, Vol. 33, no. 1, pp. 51-60.
19. Zhuang Y., Peng H., Chen Y., Zhou S., Chen Y. Dynamic monitoring of monocyte HLA-DR expression for the diagnosis, prognosis, and prediction of sepsis. *Front. Biosci., Landmark*, 2017, Vol. 22, pp. 1344-1354.

---

**Авторы:**

**Чистякова Г.Н.** — д.м.н., профессор, руководитель отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

**Ремизова И.И.** — к.б.н., старший научный сотрудник отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

**Устьянцева Л.С.** — младший научный сотрудник отделения физиологии и патологии новорожденных и детей раннего возраста ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

**Шамова К.П.** — врач анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных, заочный аспирант ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

---

**Authors:**

**Chistyakova G.N.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnostics, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Ekaterinburg, Russian Federation

**Remizova I.I.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnostics, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Ekaterinburg, Russian Federation

**Ustyantseva L.S.**, Junior Research Associate, Department of Physiology and Pathology of Newborns and Infants, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Ekaterinburg, Russian Federation

**Shamova K.P.**, Anesthesiologist, Intensive Care Department for Newborns, Postgraduate Student, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Ekaterinburg, Russian Federation

**Бычкова С.В.** — к.м.н., старший научный сотрудник отделения сохранения репродуктивной функции ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

**Боцьковская М.А.** — врач-неонатолог отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных, заочный аспирант ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

**Газиева И.А.** — д.б.н., ведущий научный сотрудник отделения антенатальной охраны труда ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

**Bychkova S.V.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of Reproductive Function Preservation, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Ekaterinburg, Russian Federation

**Botskovskaya M.A.**, Neonatologist, Department of Intensive Care for Newborns, Postgraduate Student, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Ekaterinburg, Russian Federation

**Gazieva I.A.**, PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Department of Antenatal Labor Protection, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Ekaterinburg, Russian Federation

---

Поступила 10.08.2018

Отправлена на доработку 19.09.2018

Принята к печати 19.09.2018

Received 10.08.2018

Revision received 19.09.2018

Accepted 19.09.2018