

УДК616.9:578.834.1-053.4/.71+612.017.1:355.01

Т. Ф. Голубова, А.И. Бобровицкая, Л.А. Сухорукова, К.С. Бугашев, Е. С. Карачаева

ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА ПРИ COVID-19 SARS-CoV-2 ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ, ПРОЖИВАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ АКТИВНЫХ БОЕВЫХ ДЕЙСТВИЙ*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым «Научно-исследовательский институт детской курортологии, физиотерапии и медицинской реабилитации», Крым, г. Евпатория**ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького» Минздрава России***Аннотация**

Проанализированы результаты исследования иммунологических показателей у 24 детей и подростков при COVID-19 SARS-CoV-2 инфекции не принимавших глюкокортикоиды в рамках комплексного лечения. Стратификация исходных показателей клеточного иммунитета была произведена по динамике процентного содержания CD4+-Т-лимфоцитов: группа 1 (13) детей — имела повышение процентного содержания CD4+-Т-лимфоцитов, группа 2 (11) — снижение. Установлено повышение абсолютного уровня лимфоцитов на фоне заболевания наблюдалось в 13 (54,16%) случаях; снижение — 11 (45,84%). Повышение процентного содержания CD4+-Т-лимфоцитов регистрируется чаще в 1,2 раза по сравнению со снижением. Повышение/снижение процентного уровня CD8+-Т-лимфоцитов на фоне заболевания относительно исходного отмечается в равной степени: в 50% и 41,7% случаев, соответственно. У больных первой группы отмечаются более низкие исходные уровни CD3+- и CD4+-Т-лимфоцитов относительно больных второй группы. Тогда как у больных, характеризующихся снижением процентного уровня CD4+-Т-лимфоцитов на фоне заболевания — исходные уровни CD3+- и CD4+-Т-лимфоцитов более высокие. Выявленный нами феномен подтверждается и данными корреляционного анализа. Динамика исследованных показателей клеточного иммунитета при COVID-19 SARS-CoV-2 инфекции относительно исходных имеет противоположно направленный характер, что может определяться типом реагирования иммунной системы.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, новая коронавирусная инфекция, иммунитет, вариабельность

Актуальность проблемы COVID-19 SARS-CoV-2 инфекции согласно данным авторов [1, 2, 3, 4, 5, 6] состоит в том, что основной причиной неблагоприятного исхода болезни является с одной стороны прогрессирующее поражение легких; другой — развитие вторичной иммунной недостаточности различной степени выраженности, которое проявляется снижением содержания в периферической крови абсолютного количества лимфоцитов и сдвигом в Т-клеточном звене иммунитета в виде снижения абсолютного количества CD4+- и CD8+-Т-лимфоцитов. Выраженность сдвига в Т-клеточном звене иммунитета, по мнению данных [7, 8], прежде всего, определяется тяжестью специфического и неспецифического воспалительного процесса в организме и особенностями клинического проявления болезни.

Цель: изучить особенности иммунного ответа при COVID-19 SARS-CoV-2 инфекции у детей и подростков, проживающих в условиях локального военного действия, для определения на ранних этапах риска развития постковидного синдрома.

Материал и методы исследований. Изучены истории болезни 24 детей и подростков, которые не были инфицированы вирусом SARS-CoV-2 (2018–2019 г.) и в первые 3 месяца

2020 года. В начальном периоде болезни у всех заболевших были выявлены: положительный результат ПЦР теста на SARS-CoV-2, поражение легких в виде пневмонии у 17 (70,8%) по данным КТ и бронхопневмонии — 7 (29,2%), сатурация <96%, повышенное содержание антител (IgG, IgM) к вирусу SARS-CoV-2, амбулаторное лечение осуществлялось без глюкокортикостероидов.

При изучении гемограммы определялся уровень гемоглобина, общее количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, а также процентное содержание палочкоядерных, сегментоядерных нейтрофилов и агранулоцитов: лимфоцитов и моноцитов с помощью гематологического анализатора автоматического «Micro CC-20 Plus».

Иммунологическое исследование включало анализ отдельных звеньев иммунитета — Т и В-лимфоцитов. Определялись абсолютное число лейкоцитов и лимфоцитов периферической крови; осуществлялось иммунофенотипирование лимфоцитов с индикацией абсолютного и относительного количества CD3+ (Т-лимфоцитов); CD4+ (Т-хелперов); CD8+ (Т-супрессоров), а также иммунорегуляторного индекса (Т-хелперов/Т-супрессоров) в прямой реакции поверхностной иммунофлюорес-

ценции с помощью моноклональных антител (МКА) («BectonCoulter», Франция)

Математическая и статистическая обработка проводилась на ПЭВМ Pentium II с использованием программных пакетов «Excel XP» (Microsoft Corp., США) и «STATISTICA 6.0» (StatSoftIns., США). Для параметрических показателей осуществляли расчет среднего арифметического ($\bar{M}$), ошибки средней (m), t -критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. У 24 детей и подростков, проживающих в условиях активных боевых действий и пандемии COVID-19 SARS-CoV-2, оценено состояние общей естественной резистентности и иммунологической реактивности организма путем комплексного исследования показателей общего реактивного потенциала (НЭК, КФП, ИЛП, АНО); клеточного звена иммунитета (CD3+, CD4+, CD8+). Гемограмма у всех детей характеризовалась средними показателями: эритроциты $3,9 \pm 0,9 \times 10^{12}/л$, гемоглобин $124,1 \pm 10,3$ г/л, лейкоциты $10,2 \pm 2,1 \times 10^9/л$, эозинофилы $3,0 \pm 0,6\%$, палочкоядерные $8,5\% \pm 1,3\%$, сегментоядерные $47,0 \pm 3,1\%$, лимфоциты $38,3 \pm 2,4\%$, моноциты $8,2 \pm 1,8\%$. СОЭ — $10,2 \pm 2,7$ мм/час. Показатели естественной резистентности организма у детей и подростков представлены в таблице 1.

Согласно данным таблицы 1, у всех больных выявлено повышение показателей НЭК — на 64,0% и КФП — 26,3%; снижение ИЛП — на 39,3% и АНО — 12,8% по сравнению с показателями условно здоровых детей статистически достоверно ($p > 0,05$).

Введение коэффициента и учет НЭК базируется на предположении, что при метаболических нарушениях, связанных с перегрузкой кровотока продуктами интоксикации, воспаления, адсорбцией их на эритроцитах и гемоглобин будет хуже справляться со своими адсорбционно-транспортными функциями. Высокие показатели НЭК позволяют судить о степени активности инфекционно-воспалительного процесса и необходимости противовоспалительной терапии.

Оценка условного коэффициента проводилась по принципу, чем меньше оказывается КФП, тем больше выражен риск прорыва барьера на пути инфекционного агента. Поэтому возможна у данных детей и подростков генерализация воспалительного процесса и развитие осложнений специфического и не специфического характера.

В обеспечении специфического иммунного ответа на внедрение возбудителя инфекционного заболевания большую роль играют лимфоциты. Определение их количества и отношение их удельного веса к общей массе лейкоцитов позволяет определить способность организма отвечать на антигенное раздражение — снижение ИЛП у данных больных отражает недостаточную выработку специфических антител.

В связи с тем, что иммунная система в развитии любого инфекционно-воспалительного процесса играет основную роль, по мнению некоторых исследователей типирование иммунных реакций, особенно при вирусных инфекциях является важным фактором для индивидуального подхода к терапии. А.Г. Борисов и соавторы (2015) предложили 6 типичных разновидностей иммунных нарушений при заболеваниях любой этиологии (в том числе, обусловленных ДНК — вирусами). Однако, не определено, что же является основным критерием иммунной недостаточности.

В качестве основного критерия некоторые авторы [5, 8] предлагают процентное содержание CD4+ Т-лимфоцитов использовать для формирования групп больных: первая группа (13) больных имеет повышение в динамике содержания CD4+ Т-лимфоцитов в периферической крови; вторая группа (11) — снижение (табл. 2). Определялись процентное и абсолютное содержание Т-лимфоцитов и субпопуляций Т — лимфоцитов (CD4+ Т-хелперов, цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов).

Проведенные в периоде пандемии исследования (табл. 2), позволили выявить, что типичным для данной инфекции является снижение уровня лимфоцитов, сдвиги в Т-клеточном звене иммунитета (снижение абсолютного ко-

Таблица 1. Показатели естественной резистентности организма у детей и подростков, проживающих в условиях военного конфликта и пандемии COVID-19 SARS-CoV-2 инфекции.

Показатели	COVID-19 SARS-CoV-2 инфекция, n=24	условно здоровые дети, n=30
Нагрузочно-эритроцитарный коэффициент (НЭК)	$0,82 \pm 0,03^*$	$0,5 \pm 0,05$
Клеточно-фагоцитарный потенциал (КФП)	$595,01 \pm 6,4^*$	$471,0 \pm 12,5$
Иммуно-лейкоцитарный потенциал (ИЛП)	$375,42 \pm 7,2^*$	$618,0 \pm 17,8$
Аллергичкая настроенность организма (АНО)	$294,11 \pm 14,9^{**}$	$337,0 \pm 17,8$

Примечание. Различия между показателями статистически достоверные * при $p < 0,05$; не достоверные ** при $p > 0,05$

Таблица 2. Динамика показателей клеточного звена иммунитета при COVID-19 инфекции у детей и подростков, проживающих условиях активных боевых действий

Показатель, единицы измерения [референсные значения]	Первая группа, n=13	Вторая группа, n=11	p
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ [4–9]	7,4	6,44	0,78
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$ [1,1–3,2]	1,99	2,34	0,30
CD3+, %, [61–85]	68,5	86,92	0,08
CD3+, $\times 10^9/\text{л}$, [0,94–2,1]	1,92	2,72	0,11
CD3+4 % [35–55]	45,5	55,85	0,02
CD3+4+, $\times 10^9/\text{л}$, [0,58–1,3]	0,89	1,21	0,54
CD3+8+, %, [19–35]	21,8	26,76	0,01
CD3+8+, $\times 10^9/\text{л}$, [0,37–1]	0,49	0,87	1,05
ИРИ, Ед. [1,5–2,6]	2	2,1	0,9

личества CD3+-, CD4+- и CD8+- Т-лимфоцитов). Наряду с этим отмечена и значительная вариабельность показателей клеточного звена иммунитета у больных с поражениями легких при среднетяжелой форме болезни.

Данная вариабельность отмечалась как в сторону более высокого, так и в сторону более низкого содержания ряда субпопуляций лимфоцитов относительно референсных — значений: выраженная лейкопения ($<6,0 \times 10^9/\text{л}$) выявлена в пределах 9(37,5%) случаев, лейкоцитоз ($>7,0 \times 10^9/\text{л}$) — 11(45,8%) и нормоцитоз — 4(16,7%); лимфопения — 15 (58,3%), лимфоцитоз — (3,2%), что согласуется с данными литературы [4, 9, 10, 11].

Однако, авторами установлено снижение тяжести болезни отмечалось в 35,5% случаев; CD16+56+-НК-клеток менее 6% в 26,7%. Кроме этого, у данных больных наблюдалось повышение процентного содержания HLADR+ и CD3+HLADR+-лимфоцитов (60% против 86,7%) соответственно. Увеличение содержания активационных маркеров, в том числе (HLA-DR) на лимфоцитах при COVID-19 SARS-CoV-2 подтверждено также исследованиями зарубежных авторов [15, 16].

Учитывая, что иммунная система играет основную роль в развитии инфекционных за-

болеваний, типирование иммунных реакций при вирусных инфекциях является важным для персонифицированного подхода к лечению этих заболеваний. Используя кластерный анализ А.Г. Борисов и соавторы (2015) выделили 6 типичных разновидностей иммунных нарушений при инфекционно-воспалительных процессах обусловленных в том числе РНК- и ДНК содержащими вирусами.

Однако, что является основным критерием иммунной недостаточности не определено.

Нами также установлено, что на протяжении болезни повышение абсолютного уровня лимфоцитов в 14 (58,3%) случаев на 29,3%; 10 (29,2%) — снижение на 24,9%. При этом отмечена разнонаправленная динамика процентного содержания CD4+-Т-лимфоцитов. Повышение процентного уровня CD4+-Т-лимфоцитов чаще в 2 раза регистрировалось по сравнению со снижением (66,7% против 33,3%) и, в среднем, коэффициент вариации показателя (как повышения, так и снижения) составлял 22,4%.

Аналогичный характер имела также динамика показателя иммунорегуляторного индекса (ИРИ) на протяжении болезни относительно исходного уровня. Повышение ИРИ (в среднем, на 78,3%) наблюдалось у 13 (58,3%) больных,

а снижение (в среднем, на 30,8%) — у 11 (33,3%). Повышение/снижение процентного CD8+-Т-лимфоцитов относительно исходного уровня на протяжении болезни отмечалось в равной степени (50% против 41,7%) случаев соответственно. Причем, повышение процентного содержа-

Таблица 3. Корреляционные зависимости между характером динамики ИРИ и CD4+-Т-лимфоцитов при COVID-19 инфекции с исходными показателями клеточного иммунитета у детей, проживающих в условиях активных боевых действий ($R, p < 0,05$)

Исходный показатель	Повышение процентного содержания CD4+- Т-лимфоцитов	Повышение ИРИ
CD3+, %	-0,57	-0,45
CD3+4+, %	-0,7	0,5
CD3+8+, %	-0,06	-0,9
CD16+56+, %	-0,6	-0,3
CD19+, %	0,4	0,1
ИРИ, Ед. [1,5–2,6]	-0,4	-0,4

ния CD8+Т-лимфоцитов в процессе болезни составило 19%, снижение — 27%.

Согласно данным таблицы 3, у всех детей иммунная система среагировала на инфицирование вирусом SARS-CoV-2 перестройкой субпопуляционного состава лимфоцитов. Однако, характер ответной реакции на инфицирование вирусом SARS-CoV-2 (соотношения основных регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов противоположное и представлено двумя вариантами — повышение и снижение доли каждого.

Выводы. Повышение количества Т-лимфоцитов (CD3+) при COVID-19 SARS-CoV-2 инфекции в остром периоде является благоприятным признаком у детей и подростков особенно, проживающих в условиях локальных боевых действий.

Основой разных вариантов ответной реакции при COVID-19 SARS-CoV-2, вероятно, являются особенности реагирования иммунной системы организма детей и подростков, проживающих в условиях активных боевых действий и постоянного стресса.

Стратификация больных в подгруппы со сходными показателями иммунной системы является обязательной для реализации индивидуального подхода при назначении терапии.

T.F. Golubova, A.I. Bobrovitskaya, L.A. Sukhorukova, K.S. Bugashev, E.S. Karachaeva

FEATURES OF THE CELLULAR LINK OF IMMUNITY IN COVID-19 SARS-COV-2 INFECTION IN CHILDREN AND ADOLESCENTS LIVING IN CONDITIONS OF ACTIVE HOSTILITIES

Abstract. The results of the study of immunological parameters in 24 children and adolescents with COVID-19 SARS-CoV-2 infection who did not take glucocorticoids as part of complex treatment were analyzed. The stratification of the initial indicators of cellular immunity was carried out according to the dynamics of the percentage of CD4+T-lymphocytes: group 1 (13) of children had an increase in the percentage of CD4+T-lymphocytes, group 2 (11) — a decrease. An increase in the absolute level of lymphocytes against the background of the disease was observed in 13 (54.16%) cases; a decrease of — 11 (45.84%) An increase in the percentage of CD4+T lymphocytes is recorded more often by 1.2 times compared with a decrease. An increase/decrease in the percentage level of CD8+T-lymphocytes against the background of the disease relative to the initial one is noted equally: in 50% and 41.7% of cases, respectively. CD3+ and CD4+T-lymphocytes are higher. The phenomenon we have identified is also confirmed by the data of correlation analysis. The dynamics of the studied indicators of cellular immunity in COVID-19 SARS-CoV-2 infection with respect to the initial ones has an oppositely directed character, which may be determined by the type of response of the immune system.

Keywords: SARS-CoV-2, new coronavirus infection, immunity, variability

ЛИТЕРАТУРА

1. Васнева Н.Н. Динамика показателей клеточного иммунитета при новой коронавирусной инфекции (НКИ). //Ж.П. Васнева, Н.Н.Бочкарева, С.Э.Безкаравайный.//журнал Инфектологии.—Том 15, № 2. – 2023.— С.34-36
2. Qin C., Zhou L., Hu Z. et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. Clin Infect Dis. 2020. DOI: 10.1093/cid/ciaa248
3. Бородулина Е.А., Васнева Ж.П., Бородулин Б.Е. и др. Гематологические показатели при поражениях легких, вызванных инфекцией COVID-19. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65(11):676-682. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-11-676-682
4. Васнева Ж.П., Вдоушкина Е.С., Поваляева Л.В. Корреляционные связи показателей. Педиатрическая фармакология 2015; 12(3): 71–76. клеточного звена иммунитета со степенью поражения легких при COVID-19. В сб. трудов XXXII Национального конгресса по болезням органов дыхания с международным участием. – Москва, 2022; 77-78.
5. Васнева Ж.П., Бородулина Е.А., Бородулин Б.Е. и др. Показатели клеточного иммунитета при COVID-19. якутский медицинский журнал. 2022; 4(80):68-70. DOI:10.25789/YMJ.2022.80.18
6. Baazi H., Schweiger M., Moschinger M. et al. CD8+ T cells induce cachexia during chronic viral infection. Nat Immunol. 2019; 20(6):701-710. DOI: 10.1038/s41590-019-0397-y
7. Lu Q, Wang Z, Yin Y, et al. Association of peripheral lymphocyte and the subset levels with the progression and mortality of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. Front Med. 2020;7:558545. DOI:10.3389/fmed.2020.558545
8. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y. et al. China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. N Engl J Med. 2020; DOI: org/10.1056/NEJMoa2002032.
9. Osman J., Lambert J., Temple M. et al. Rapid screening of COVID-19 patients by white blood cell scattergrams, a study of 381 patients. Br J Haematol. 2020;190(5):718-722. DOI:10.1111/bjh.16943.
10. Qian G.Q., Yang N.B., Ding F., et al. Epidemiologic and clinical characteristics of 91 hospitalized patients with COVID-19 in Zhejiang, China: a retrospective, multi-centrecas series. QJM. 2020;113(7):474-481. DOI.org/ 11.1093/qjmed/hcaa089.
12. Golovkin A., Kalinina O., Bezrukikh V. et al. Imbalanced immune response of T – cell and B – cell subsets in patients with moderate and severe COVID-19. Viruses. 2021;13:1966. DOI.org/10.3390/v13101966
13. Cossarizza A., De Biasi S., Guaraldi G. et al. Modena Covid-19 Working Group (MoCo19) #. SARS-CoV-2, the Virus that Causes COVID-19: Cytometry and the New Challenge for Global Health. Cytometry A. 2020; 97(4):340–343. DOI:10.1002/cyto.a.24002.
14. Wang F., Hou H., Luo Y. et al. The laboratory tests and host immunity of COVID-19 patients with different severity of illness. JCI Insight. 2020; 5 (10). DOI.org/10.1172/jci.insight.137799.
15. McLernon D.J., TeVelde E.R., Steyerberg E.W. et al. Clinical prediction models to inform individualized decision-making in subfertile couples: a stratified medicine approach. Hum. Reprod., 2014; 29(9):1851–1858. DOI:10.1093/humrep/deu173.
16. Борисов А.Г., Савченко А.А., Кудрявцев И.В. Особенности иммунного реагирования при вирусных инфекциях. Инфекция и иммунитет. 2015;5(2): 148–156. DOI:10.15789/2220-7619-2015-2-148-156