https://doi.org/10.21516/2072-0076-2019-12-2-5-11

Ретинопатия недоношенных: показатели клеточного иммунитета у больных с разными стадиями заболевания

Л.М. Балашова — д-р мед. наук, заведующая НИЛ детской офтальмологии[1], врач[2], директор[4]
Ю.Д. Кузнецова — научный сотрудник[1], врач-офтальмолог[3], заведующая детской офтальмологической службой[4]
Л.С. Коробова — врач-анестезиолог[2], руководитель детской анестезиологической службы[4]
Е.П. Кантаржи — канд. биол. наук, профессор, старший научный сотрудник НИЛ детской офтальмологии[1], член совета[4]
В.Е. Мухин — научный сотрудник отдела клеточных технологий и регенеративной медицины[1]
Е.А. Черкашина — старший лаборант[1], заместитель директора[4]
С.Н. Быковская — д-р мед. наук, профессор, заведующая отделом клеточных технологий и регенеративной медицины[1]

[1] ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1
[2] ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница» департамента здравоохранения Москвы, 119049, Москва, 4-й Добрынинский переулок, д. 1/9
[3] ФГУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России, 119571, Москва, Ленинский пр-т, д. 117
[4] НП «Международный научно-практический центр пролиферации тканей», 119034, Москва, ул. Пречистенка, д. 29/14

***Цель** работы — изучение роли клеточного иммунитета в развитии ретинопатии недоношенных (РН). **Материал и методы.** Обследовано 87 детей, из них 60 — с РН от III+ до V стадий и задней агрессивной РН в сроках гестации от 25 до 32 нед (гестационный возраст на момент рождения), в возрасте от 1 мес до 1 года (основная группа) и 27 доношенных, соматически здоровых детей в том же возрасте (контрольная группа). **Результаты.** Не выявлено статистически достоверных различий иммунологических показателей детей в возрасте от 1 до 3 мес, от 3,5 до 6 мес и от 6,5 мес до 1 года. Гестационный возраст в момент рождения не влиял на исследованные показатели. При увеличении тяжести РН на фоне сниженных показателей Т-регуляторных клеток происходило увеличение количества В-клеток ($CD19^+$) и достоверное ($p < 0,05$) уменьшение Т-клеток — натуральных киллеров ($CD3^-/CD16^+CD56^+$), уменьшение количества $CD4^+$ Т-клеток ($p < 0,01–0,05$). **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о появлении аутоиммунных реакций и снижении уровня регуляторных Т-клеток у недоношенного ребенка, более выраженных при тяжелых стадиях РН.*

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных, клеточный иммунитет, регуляторные Т-клетки, В-клетки ($CD19^+$), иммуносупрессия, аутоиммунитет

Для цитирования: Балашова Л.М., Кузнецова Ю.Д., Коробова Л.С., Кантаржи Е.П., Мухин В.Е., Черкашина Е.А., Быковская С.Н. Ретинопатия недоношенных: показатели клеточного иммунитета у больных с разными стадиями заболевания. Российский офтальмологический журнал. 2019; 12 (2): 5-11. doi: 10.21516/2072-0076-2019-12-2-5-11

© Л.М. Балашова, Ю.Д. Кузнецова, Л.С. Коробова и др.; ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница» департамента здравоохранения Москвы; ФГУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России; НП «Международный научно-практический центр пролиферации тканей»

Конфликт интересов: отсутствует.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Retinopathy of prematurity: indicators of cellular immunity in patients with various stages of the disease

L.M. Balashova — Dr. Med. Sci., head of scientific laboratory of pediatric ophthalmology[1], ophthalmologist[2], director[4]
Y.D. Kuznetsova — researcher[1], ophthalmologist[3], head of ophthalmology department[4]
L.S. Korobova — anesthesiologist[2], head of pediatric anesthesiologic department[4]
E.P. Kantarzhi — Cand. Biol. Sci., Professor, senior researcher of scientific laboratory of pediatric ophthalmology[1], council member[4]
V.E. Mukhin — researcher of the department of cell technologies and regenerative medicine[1]
E.A. Cherkashina — senior laboratory assistant[1], deputy director[4]
S.N. Bykovskaya — Dr. Med. Sci., Professor, head of the department of cell technologies and regenerative medicine[1]

[1] Pirogov Russian National Research Medical University, 1, Ostrovitianova St., 117997, Moscow, Russia
[2] Morozov Children City Clinical Hospital, 1/9, 4th Dobryninsky per., Moscow, 119049, Russia
[3] Russian Children Clinical Hospital, 117, Leninsky prosp., 117997, Moscow, Russia
[4] International theoretical and practical tissue proliferation center, 29/14, Prechistenka St., 119134, Moscow, Russia
rsmu@rsmu.ru, blm1962@yandex.ru

Purpose: *to study the role of cellular immunity in the development of retinopathy of prematurity (ROP).* ***Material and methods.*** *87 children were tested, including 60 with III — V stage ROP and posterior aggressive retinopathy that had gestational age from 25 to 32 weeks at birth, aged 1 month to 1 year (study group) and 27 healthy children of the same age (control group).* ***Results.*** *No statistically significant differences of immunological parameters were revealed within the groups of children aged 1 to 3 months, 3.5 to 6 months, and 6.5 to 12 months. The gestational age at birth had no effect on the parameters studied. With increasing severity of ROP amid reduced indicators of T-regulatory cells, the number of B-cells ($CD19^+$) grew, T-natural killer cells ($CD3^-/CD16^+CD56^+$) reduced significantly ($p < 0.05$), and the number of $CD4^+$ T-cells reduced showing the significance of ($p < 0.01–0.05$).* ***Conclusion.*** *The obtained data testify to the emergence of autoimmune reactions and a decrease in the level of regulatory T-cells in a premature child, more pronounced in severe stages of ROP.*

Keywords: retinopathy of prematurity, cellular immunity, T-regulators, B-cells ($CD19^+$), immunosuppression, auto-immunity

For citation: Balashova L.M., Kuznetsova Y.D., Korobova L.S., Kantarzhi E.P., Mukhin V.E., Cherkashina E.A., Bykovskaya S.N. Retinopathy of prematurity: indicators of cellular immunity in patients with various stages of the disease. Russian ophthalmological journal. 2019; 12 (2): 5-11 (In Russian).
doi: 10.21516/2072-0076-2019-12-2-5-11

Conflict of interests: there is no conflict of interests.

Financial disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

Ретинопатия недоношенных (РН) была описана впервые в 1942 г. T. Terry как ретролентальная фиброплазия. У 30 % недоношенных детей нарушается нормальный ангиогенез, что сопровождается появлением ангиогенной и фиброзной, недостаточно контролируемой пролиферации с развитием тракционной отслойки сетчатки. Для тяжелых стадий РН характерна быстрота и необратимость процесса. Подобные изменения происходят на фоне незрелости организма в целом и, в частности, иммунной

системы у глубоко недоношенных детей [1, 2]. Тем не менее мы не встретили в научной литературе публикаций, посвященных исследованию клеточного иммунитета у детей с РН, в связи с чем и была проведена данная работа.

Чрезвычайное значение в механизмах иммуносупрессии имеют регуляторные клетки с фенотипом $CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$ (Т-рег). Регуляторные клетки играют существенную роль в развитии иммунного и аутоиммунного ответа [3, 4], осуществляя баланс иммунного ответа. При аутоиммунных заболеваниях наблюдается снижение количества регуляторных Т-клеток и нарушение их функции [5, 6]. В связи с повреждением при РН сосудов и сетчатки изучение функций Т-рег является важным для понимания патогенеза этого заболевания.

ЦЕЛЬЮ данной работы было изучение роли клеточного иммунитета в развитии РН.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Всего обследовано 87 детей, из них 60 — с РН от III+ до V стадии и задней агрессивной РН (ЗАРН) в сроках гестации от 25 до 32 нед (гестационный возраст на момент рождения), в возрасте от 1 мес до 1 года (основная группа) и 27 доношенных, соматически здоровых детей в том же возрасте (контрольная группа).

Основная группа была разделена на 4 подгруппы в зависимости от стадии РН. В 1-ю подгруппу вошли 20 детей с РН III+ стадии, во 2-ю подгруппу — 12 пациентов с РН IV стадии, в 3-ю — 19 больных с РН V стадии, в 4-ю — 9 детей с задней агрессивной РН (ЗАРН).

В анамнезе недоношенных детей было зарегистрировано: перинатальное поражение центральной нервной системы II–III степени, анемия недоношенных, внутриутробная пневмония с дыхательной недостаточностью I–III степени, ишемическое поражение перивентрикулярной области, внутрижелудочковые кровоизлияния II–III степени, некротизирующий энтероколит, изменение гемодинамики в связи с пороками развития сердечно-сосудистой системы. Выхаживание этих детей происходило с использованием кислорода от нескольких суток до месяца, в единичных случаях — дольше.

Иммунофенотипирование клеток периферической крови. Периферическую кровь отбирали в пробирки из вены до проведения анестезии перед операцией с антикоагулянтом K3EDTA (Greiner Bio One, Austria). Лизирование эритроцитов производили при помощи лизирующего буфера Red Blood Cel lLysis buffer (Life technologies, США) по протоколу производителя. Клетки в количестве 5×10^6 из осадка или после трансформации *ex vivo* ресуспендировали в 200 мкл DPBS (Life technologies). Т-рег клетки метили при помощи T-reg detection staining cocktail (Miltenyi Biotec, Германия) по протоколу производителя. Количество Т-рег определяли методом проточной цитометрии на цитометре MACS Quant (Miltenyi Biotec). Для анализа маркеров иммунокомпетентных клеток крови использовали коктейль флюорохром-конъюгированных моноклональных антител: CD14 FITC (изотип мышиные IgG2a), CD56 PE (изотип мышиные IgG1), CD16 PE (изотип мышиные IgM), CD4 PerCP (изотип мышиные IgG2a), CD19 PE-Vio770™ (изотип мышиные IgG1), CD3 APC (изотип мышиные IgG2a), CD8 APC-Vio770 (изотип мышиные IgG2a), CD45 Vio Blue® (изотип IgG2a).

Мононуклеарные клетки в количестве 1×10^6 ресуспендировали в 200 мкл фосфатного буферного раствора (ФБС) и метили антителами CD4-FITC и CD25-APC (все от Miltenyi Biotec). Далее производили фиксацию и пермобилизацию клеток при помощи Transcription Factor Buffer Set (BD Pharmingen, США), мечение антителами Foxp3-PE (BD Pharmingen) и последующий анализ на проточном цитометре.

Статистическую обработку проводили с использованием программы Statsoft Statistica v.7. Достоверность различий оценивали с помощью непараметрического критерия Манна — Уитни (сопоставление двух независимых групп данных по клиническим признакам в случае распределений, отличных от нормальных). Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Статистически достоверных различий по иммунологическим показателям при сравнении детей в возрасте от 1 до 3 мес, от 3,5 до 6 мес и от 6,5 мес до 1 года ($p > 0,05$) не было выявлено. Гестационный возраст в момент рождения не влиял на исследованные показатели.

Данные, полученные при оценке клеточного иммунитета у больных РН и соматически здоровых доношенных детей, отражены в таблицах 1–5 и на рисунках 1–5.

Анализ результатов исследования во всех случаях показал активность процесса. Как следует из таблицы 1, существует достоверное различие ($p < 0,05–0,01$) между III+ и IV стадиями РН по показателям $CD3^-/CD16^+CD56^+$ (%) и $CD3^+CD8^+$ (%); между III+ и V стадиями РН по показателям $CD3^-/CD16^+CD56^+$ (%); между ЗАРН III+ и стадией РН по показателям $CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$ (%); ЗАРН и IV стадией РН по значениям $CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$ (%); между ЗАРН и V стадией РН по значениям $CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$ (%).

Данные, представленные в этой таблице, также показывают отсутствие достоверных различий по сроку гестации, общему количеству Т- ($CD3^+$) и В-клеток ($CD19^+$), количеству $CD4^+$ Т-клеток, клеток — натуральных киллеров ($CD3^-/CD16^+CD56^+$), индексу соотношения $CD4^+/CD8^+$. Выявлена зависимость между массой тела при рождении и стадией РН (у детей с малой массой при рождении: 985,0 ± 317,2 г — чаще наблюдается V стадия РН).

Таблица 1. Возраст, срок гестации, масса тела при рождении, показатели клеточного иммунитета у детей разных подгрупп, страдающих стадиями РН и ЗАРН (M ± SD)
Table 1. Age, gestational age, body mass at birth, parameters of cellular immunity of various subgroups with III+, IV, V retinopathy of prematurity (RP) stages and posterior aggressive retinopathy of prematurity (PAROP) (M ± SD)

Показатели Parameters	Подгруппа Subgroups				p
	1-я 1st	2-я 2nd	3-я 3d	4-я 4th	
	РН III+ стадии ROP III+ stage n = 20	РН IV стадии ROP IV stage n = 12	РН V стадии ROP V stage n = 9	ЗАРН PARP n = 9	
Возраст, мес Age, months	3,1 ± 1,4	3,4 ± 1,3	6,1 ± 3,2**	2,4 ± 1,3*	< 0,05
Срок гестации, нед Gestational age, weeks	28,7 ± 2,8	29,0 ± 2,2	27,7 ± 2,0	29,4 ± 1,6	> 0,05
Масса тела при рождении, г Body mass at birth, g	1284,5 ± 394,6	1345,0 ± 405,5	985,0 ± 317,2*	1297,1 ± 455,6	< 0,05
Иммунофенотип клеток крови, % Cellular immune fenotype, %					
$CD3^+$	55,7 ± 10,7	59,2 ± 15,7	61,9 ± 12,6	58,1 ± 11,0	> 0,05
$CD19^+$ (B-cells)	19,2 ± 8,5	22,4 ± 16,0	22,3 ± 13,0	23,9 ± 11,6	> 0,05
$CD3^-/CD16^+CD56^+$	23,8 ± 10,4*	17,0 ± 4,3	13,9 ± 6,4*	17,3 ± 6,2	< 0,05
$CD3^+CD4^+$	34,7 ± 7,0	36,3 ± 9,2	35,1 ± 12,4	38,2 ± 8,0	> 0,05
$CD3^+CD8^+$	16,2 ± 6,6*	21,1 ± 9,5*	20,5 ± 13,2	18,3 ± 7,5	< 0,05
$CD4^+/CD8^+$	2,6 ± 0,9	2,0 ± 0,7	2,1 ± 1,2	2,3 ± 0,9	> 0,05
$CD4^+CD25^+$ $Foxp3^+CD127^{low}$	2,4 ± 1,2	2,6 ± 0,9	2,4 ± 1,0	3,6 ± 0,7**	< 0,01

Примечание. n — количество детей, * — p < 0,05; ** — p < 0,01.
Note. n — number of children, * — p < 0.05; ** — p < 0.01.

Обнаружено достоверное уменьшение клеток — натуральных киллеров от III+ к V стадии РН (23,8 ± 10,4 %, 17,0 ± 4,3 % и 13,9 ± 6,4 %); ЗАРН выявляется в более ранние сроки (2,4 ± 1,3 мес) при достаточно высоком количестве Т-рег с фенотипом $CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$ (%) по сравнению с III+, IV и V стадиями РН.

При сравнении детей с разными стадиями РН выявлено статистически достоверное различие некоторых параметров: дети с РН V стадии рождаются с меньшей массой тела (p < 0,05), наблюдается достоверное уменьшение клеток — натуральных киллеров от более легких к более тяжелым стадиям РН (p < 0,01–0,05). Обращает на себя внимание тот факт, что у больных с ЗАРН заболевание наблюдается в достоверно более ранние сроки (p < 0,01–0,05) при фоновом, достаточно высоком количестве Т-рег с фенотипом $CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$, что достоверно отличается от остальных стадий ретинопатии (p < 0,05). Создается впечатление, что ЗАРН имеет другой генез.

В результате не только по клинической картине, но и по состоянию Т-рег ЗАРН можно выделить в отдельную, отличающуюся от других форм РН.

В целом анализ данных (см. табл. 1) показал достоверность различий между подгруппами с ЗАРН и с III+ и V стадией РН (p < 0,05).

Использование критерия Манна — Уитни (см. табл. 1) позволило выявить достоверные различия между ЗАРН и III+ стадией по $CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$; ЗАРН и V стадией по $CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$; III+ и IV стадией по $CD3^+CD8^+$, $CD3^-/CD16^+CD56^+$; III+ и V стадией по $CD3^-/CD16^+CD56^+$ (p < 0,05).

Сравнение больных с ЗАРН и доношенных, соматически здоровых детей не выявило статистически достоверного различия ни по одному показателю (p > 0,05) (табл. 2, рис. 1).

Однако показатели клеточного иммунитета у детей с РН III+ стадии и у доношенных соматически здоровых детей (табл. 3) достоверно отличались по общему количеству лимфоцитов $CD3^+$ (%) (p = 0,003), по натуральным киллерам (NK) $CD3^-/CD16^+CD56^+$ (%) (p = 0,001), клеткам-

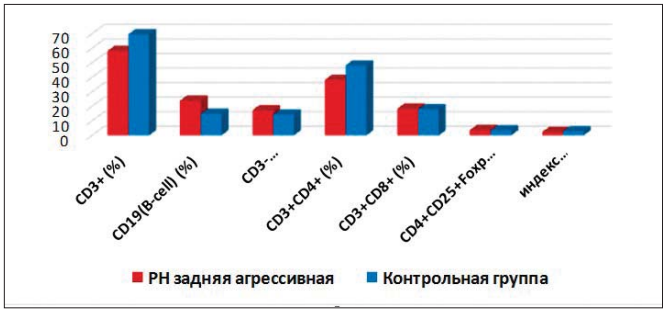

Рис. 1. Показатели клеточного иммунитета детей с ЗАРН и контрольной группы
Fig. 1. Parameters of cellular immunity of children with posterior aggressive retinopathy of prematurity and control group

Таблица 2. Показатели клеточного иммунитета (в %) у детей, страдающих ЗАРН, и доношенных, соматически здоровых детей (M ± SD)
Table 2. Parameters of cellular immunity (%) of children with posterior aggressive retinopathy of prematurity (PAROP) and full-term somatically healthy children (M ± SD)

Иммунофенотип клеток Cellular immune fenotype	Дети с ЗАРН Children with PAROP n = 9	Доношенные, соматически здоровые дети Full-term somatically healthy children n = 27	p
$CD3^+$	58,070 ± 11,002	69,5 ± 10,6	0,108
$CD19^{\pm}$ (B-cells)	23,94 ± 11,60	14,8 ± 8,7	0,160
$CD3^-/CD16^+CD56^+$	17,31 ± 6,20	14,3 ± 4,3	0,316
$CD3^+CD4^+$	38,17 ± 8,01	48,6 ± 11,5	0,150
$CD3^+CD8^+$	18,27 ± 7,60	17,9 ± 4,7	0,946
$CD4^+/CD8^+$	2,30 ± 1,85	2,9 ± 0,9	0,300
$CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$	2,56 ± 0,65	3,5 ± 1,0	0,932

хелперам $CD3^+CD4^+$ (%) (p = 0,0001), индексу $CD4^+/CD8^+$ (p = 0,006) и по Т-рег с фенотипом $CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$ (%) (p = 0,05).

Сравнение данных РН IV стадии и доношенных, соматически здоровых детей выявило достоверное различие по количеству В-клеток (p < 0,048) и по соотношению $CD4^+/CD8^+$ (p = 0,054) (табл. 4, рис. 3).

Обнаружено статистически достоверное различие по количеству В-клеток ($CD19^+$) (p = 0,054), клеткам-хелперам $CD3^+CD4^+$ (%) (p = 0,031), индексу $CD4^+/CD8^+$ (p = 0,036), Т-рег с фенотипом $CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$ (%) (p < 0,005) между группой с РН V стадии и доношенными, соматически здоровыми детьми (табл. 5, рис. 4).

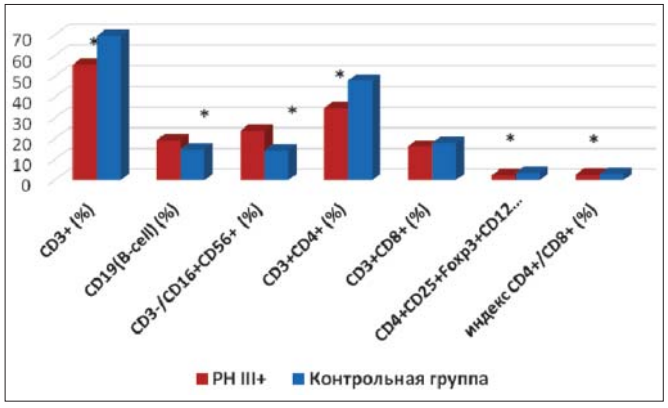

Рис. 2. Показатели клеточного иммунитета детей с РН III+ стадии и контрольной группы. * — p < 0,01–0,05
Fig. 2. Parameters of cellular immunity of children with ROP III+ stage and control group. * — p < 0.01–0.05

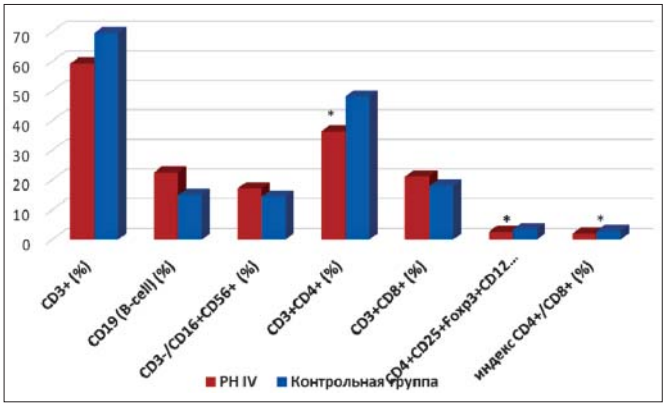

Рис. 3. Показатели клеточного иммунитета у детей с РН IV стадии и контрольной группы. * — p < 0,01–0,05
Fig. 3. Parameters of cellular immunity of children with IV ROP stage and control group. * — p < 0.01–0.05

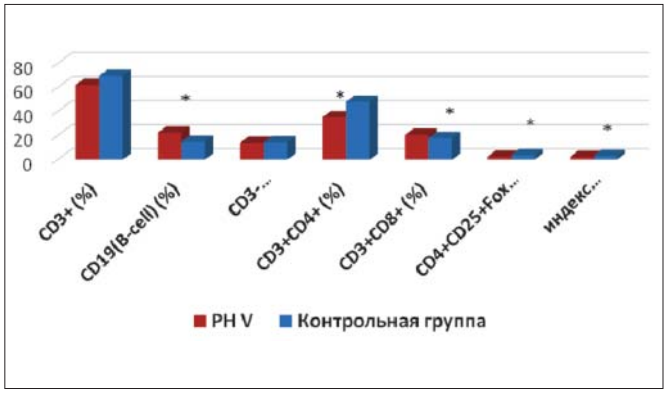

Рис. 4. Показатели клеточного иммунитета детей с РН V стадии и контрольной группы. * — p < 0,01–0,05
Fig. 4. Parameters of cellular immunity of children with V RP stage and control group. * — p < 0.01–0.05

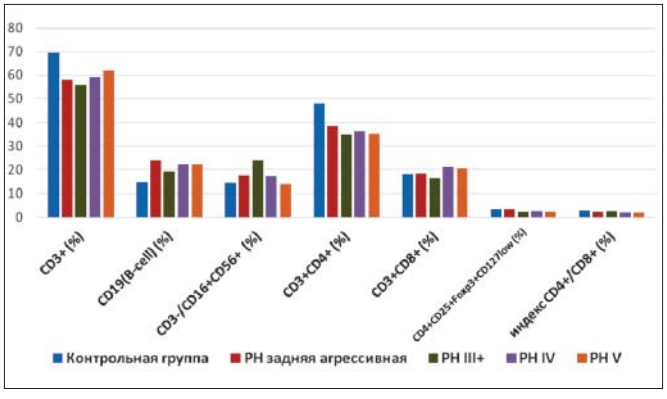

Рис. 5. Показатели клеточного иммунитета при всех формах РН и в контрольной группе
Fig. 5. Parameters of cellular immunity of children with all ROP forms and in control group

Таблица 3. Показатели клеточного иммунитета (в %) детей, страдающих III+ стадией РН, и доношенных, соматически здоровых детей (M ± SD)
Table 3. Parameters of cellular immunity (%) of children with III+ ROP stage and full-term somatically healthy children (M ± SD)

Иммунофенотип клеток Cellular immune fenotype	Дети с РН III+ стадии Children with ROP III+ stage n = 20	Доношенные, соматически здоровые дети Full-term somatically healthy children n = 27	p
$CD3^+$	55,71 ± 10,69	69,5 ± 10,6	0,003
$CD19^+$ (B-cells)	9,22 ± 8,48	14,8 ± 8,7	0,214
$CD3^-/CD16^+CD56^+$	23,75 ± 10,43	14,3 ± 4,3	0,001
$CD3^+CD4^+$	34,71 ± 6,97	48,6 ± 11,5	0,0001
$CD3^+CD8^+$	16,22 ± 6,61	17,9 ± 4,7	0,186
$CD4^+/CD8^+$	2,55 ± 0,91	2,9 ± 0,9	0,006
$CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$	2,41 ± 1,16	3,5 ± 1,0	0,05

Таблица 4. Показатели клеточного иммунитета (в %) детей, страдающих IVa-б стадией РН, и доношенных, соматически здоровых детей (M ± SD)
Table 4. Parameters of cellular immunity (%) of children with IVa-b ROP stage and full-term somatically healthy children (M ± SD)

Иммунофенотип клеток Cellular immune fenotype	Дети с РН IV стадии Children with ROP IV stage n = 12	Доношенные, соматически здоровые дети Full-term somatically healthy children n = 27	p
$CD3^+$	61,46 ± 14,03	69,5 ± 10,6	0,285
$CD19^+$ (B-cells)	22,74 ± 13,73	14,8 ± 8,7	0,048
$CD3^-/CD16^+CD56^+$	14,440 ± 6,104	14,3 ± 4,3	0,926
$CD3^+CD4^+$	39,20 ± 29,47	48,6 ± 11,5	0,150
$CD3^+CD8^+$	20,78 ± 8,21	17,9 ± 4,7	0,390
$CD4^+/CD8^+$	2,11 ± 0,64	2,9 ± 0,9	0,054
$CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$	2,89 ± 0,91	3,5 ± 1,0	0,290

Таблица 5. Показатели клеточного иммунитета (в %) детей, страдающих V стадией РН, и доношенных, соматически здоровых детей (M ± SD)
Table 5. Parameters of cellular immunity (%) of children with V ROP stage and full-term somatically healthy children (M ± SD)

Иммунофенотип клеток Cellular immune fenotype	Дети с РН V стадии Children with ROP V stage n = 19	Доношенные, соматически здоровые дети Full-term somatically healthy children n = 27	p
$CD3^+$	61,93 ± 12,62	69,5 ± 10,6	0,108
$CD19^+$ (B-cells)	22,32 ± 12,95	14,8 ± 8,7	0,054
$CD3^-/CD16^+CD56^+$	13,85 ± 6,35	14,3 ± 4,3	0,765
$CD3^+CD4^+$	35,11 ± 12,43	48,6 ± 11,5	0,031
$CD3^+CD8^+$	20,51 ± 13,19	17,9 ± 4,7	0,907
$CD4^+/CD8^+$	2,11 ± 1,21	2,9 ± 0,9	0,036
$CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$	2,36 ± 0,97	3,5 ± 1,0	0,005

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование функций Т-рег началось после опубликования эксперимента S. Sakaguchi в 1990 г. [7], когда после удаления у новорожденных мышей тимуса в первые 3 дня жизни развился аутоиммунный синдром. После введения этим животным Т-рег здоровых мышей аутоиммунный процесс блокировался. Так была доказана роль Т-рег в развитии аутоиммунного ответа.

У нас возникло предположение, что у недоношенных детей может быть недоразвит тимус, и в связи с этим возможен дефицит Т-рег, что может привести к развитию аутоиммунных заболеваний, в том числе РН, прогрессирующему повреждению нервной ткани и возникновению бронхолегочной дисплазии, перивентрикулярной лейкомаляции, некротизирующего энтероколита и др.

При увеличении тяжести РН на фоне сниженных показателей Т-рег росло количество В-клеток ($CD19^+$) и достоверно ($p < 0,05$) уменьшалось число натуральных киллеров ($CD3^-/CD16^+CD56^+$) и $CD4^+$ Т-клеток, т. е. нарушался баланс иммунитета. Полученные данные свидетельствуют о появлении аутоиммунных реакций и снижении защитных сил

организма недоношенного ребенка, более выраженных при тяжелых стадиях РН.

К нашему удивлению, при ЗАРН показатели Т- и В-клеточного иммунитета мало отличались от нормальных.

Показатели клеточного иммунитета существенно различались у доношенных, соматически здоровых детей и недоношенных, страдающих РН III+, IV и V стадий. Наиболее часто выявлялись различия по количеству Т-рег, $CD4^+$ Т-клеток, индексу $CD4^+/CD8^+$ и количеству В-клеток ($CD19^+$) ($p < 0,05–0,01$).

Очевидно, состояние иммунитета недоношенных детей играет значительную роль в появлении и прогрессировании тяжелой соматической патологии и РН.

ВЫВОДЫ

1. Не обнаружено статистически достоверных различий ни по одному исследованному показателю при сравнении больных ЗАРН и доношенных, соматически здоровых детей ($p > 0,05$).

2. У детей с РН обнаружено достоверное снижение числа клеток — натуральных киллеров ($CD3^-/CD16^+CD56^+$) от более легких к более тяжелым стадиям ($p < 0,05$).

3. При сравнении показателей клеточного иммунитета между стадиями РН выявлены достоверные различия в целом между ЗАРН и III+ стадией, ЗАРН и V стадией.

4. При сравнении показателей клеточного иммунитета у доношенных, соматически здоровых детей и у детей с III+, IV, V стадиями РН наиболее часто выявлялись различия по количеству В-клеток ($CD19^+$), $CD4^+$ Т-клеток, индексу $CD4^+/CD8^+$, Т-рег с фенотипом $CD4^+CD25^+Foxp3^+CD127^{low}$ ($p < 0,05–0,01$).

5. Состояние регуляторного звена иммунитета играет значительную роль в возникновении и прогрессировании РН.

Литература/References

1. *Балашова Л.М., Быковская С.Н., Кузнецова Ю.Д., Коробова Л.С., Кантаржи Е.П.* Сравнительная оценка клеточного иммунитета у взрослых, пожилых людей и детей. Клиническая геронтология. 2010; 16 (11–12): 77–8.
   Balashova L.M., Bykovskaya S.N., Kuznetsova Yu.D., Korobova L.S., Kantarzhi E.P. Comparative evaluation of cellular immunity in adults, elderly and children. Klinicheskaya Gerontologiya. 2010; 16 (11–12): 77–8 (in Russian).
2. *Балашова Л.М.* Значение Т-регуляторных лимфоцитов в поддержании иммунного баланса у взрослых, пожилых людей и новорожденных детей с осложненным течением неонатального периода. Клиническая геронтология. 2011; 17 (9–10): 61–2.
   Balashova L.M. Value of T-regulatory lymphocytes in maintaining immune balance in adults, the elderly and the newborn infants with complicated passage of neonatal period. Klinicheskaya Gerontologiya. 2011; 17 (9–10): 61–2 (in Russian).
3. *Насонов Е.Л., Быковская С.Н.* Т-регуляторные клетки при аутоиммунных ревматических заболеваниях. Вестник РАМН. 2006; 9–10: 74–82.
   Nasonov E.L., Bykovskaya S.N. T-regulatory cells in autoimmune rheumatic diseases. Vestnik RAMN. 2006; (9–10): 74–82 (in Russian).
4. *Семикина Е.Л., Копыльцова Е.А., Ходунова Т.В., Зиновьева Т.Е., Яцык Г.Н.* Иммунологические особенности лимфоцитов крови новорожденных детей и экспрессия цитокиновых рецепторов. Бюллетень РАМН. 2008; 12: 74–80.
   Semikina E.L., Kopyl'tsova E.A., Khodunova T.V, Zinov'yeva T.E., Yatsyk G.N. Immunologic features of newborn blood lymphocytes and expression of cytokine receptors. Bullenen' RAMN. 2008; 12: 74–80 (in Russian).
5. *Sakaguchi S., Ono M., Setoguchi R., et al.* $Foxp3^+CD4^+CD25^+$ natural regulatory T-cells in dominant self-tolerance and autoimmune diseases. J. Immunol. 2006; 212: 8–27.
6. *Yisong Y.Y.* Multitasking of helper T-cells. Immunology. 2010; 130(2): 166–71. doi: 10.1111/j.1365-2567.2010.03289.x
7. *Sakaguchi S.* Thymus and autoimmunity: capacity of the normal thymus to produce pathogenic self-reactive T-cells and conditions required for their induction of autoimmune disease. J. Exp. Med. 1990; 172 (2): 537–45.

Поступила: 21.02.2018
Принята к печати: 25.03.2019

Для контактов: Лариса Маратовна Балашова
E-mail: rsmu@rsmu.ru, blm1962@yandex.ru