

УДК 616-092.19-053.2-008.8)-085.357:612.014

**В.В. Чоп'як, Г.О. Потьомкіна, І.Й. Кріль,  
Л.М. Білянська, М.В. Мазурак, Х.О. Ліщук-Якимович**

## **Дослідження регуляторних імунних механізмів та можливостей їх корекції у дітей, що часто хворіють**

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA.2015.3(67):85-91; doi10.15574/SP.2015.67.85

**Мета:** оцінити вплив синбіотика Флувіру на регуляторні показники імунної системи дітей молодшого шкільного віку, що часто хворіють, у період нестійкої ремісії респіраторних захворювань.

**Пацієнти і методи.** Під спостереженням знаходилися 40 дітей молодшого шкільного віку (6–11 років), які на підставі даних анамнезу, результатів клінічного, інструментального, лабораторного обстеження були віднесені до диспансерної групи дітей, що часто хворіють, з частотою респіраторних захворювань понад вісім разів на рік. Усі хворі отримували синбіотик «Флувір» (дитячий) курсом один місяць. Дослідження проводилися до початку та після закінчення вживання Флувіру.

**Результати.** На тлі застосування Флувіру відбулося покращання загального стану та регресії клінічних проявів у 70% пацієнтів; посилення мукозального, протиінфекційного, у тому числі противірусного, імунітету та регуляторної здатності адаптивної імунної відповіді; стабілізація антигенпрезентуючих процесів, зменшення активності запального процесу та аутоімунної настороженості захисних систем організму.

**Висновки.** На основі отриманих даних можна оцінити ефективність синбіотика Флувіру як помірну, з позитивною динамікою вивчених показників імунної системи в середньому у 58,6% пацієнтів. Виявлені порушення в імунній системі дітей, що часто хворіють, можуть стати предиктором розвитку аутоімунних хвороб. Тому рекомендовано використовувати Флувір протягом двох-трьох місяців під контролем імунологічних показників.

**Ключові слова:** діти, що часто хворіють, регуляторні імунологічні механізми, мукозальний імунітет, симбіотик Флувір.

### **Вступ**

Проблема частотою захворюваності дітей на гострі респіраторні інфекції не втрачає актуальності. Встановлено, що у дітей, які часто хворіють (ДЧХ), має місце порушення процесів росту, розвитку, дозрівання функціональних систем; відбувається формування хронічної патології ЛОР-органів, легенів, нирок, шлунково-кишкового каналу, нервової системи; розвиваються алергічні, аутоімунні, імунопроліферативні захворювання тощо. У таких дітей часто формується резистентність до препаратів, які входять до традиційних схем лікування. Окрім медичних аспектів, проблема ДЧХ має серйозні соціально-економічні наслідки. Переконаливо доведено, що у таких пацієнтів часто виникає соціальна дезадаптація, знижується шкільна успішність, порушується якість життя, як самої дитини, так і членів її родини [3,6,16].

У даний час ДЧХ відносять до особливої групи диспансерного спостереження, до якої входять в середньому 15–18% дітей нашої країни [15,19]. У деяких регіонах України частка ДЧХ досягає 25–65%. Близько 20% осіб з диспансерної групи ДЧХ хворіють на гострі респіраторні захворювання практично щомісяця [12,14,17,18]. Особливу увагу необхідно звернути на значну частку ДЧХ серед дітей молодшого віку [11].

Спеціалісти стверджують, що ДЧХ — це не нозологічна форма і не діагноз, а особлива група диспансерного спостереження, що включає дітей з частими респіраторними інфекціями, проявами алергічного характеру, що виникають через транзиторні імунодефіцитні порушення, а підвищена сприйнятливність до респіраторних інфекцій у них не пов'язана з природженими хворобами імунної системи. У зарубіжній літературі використовується термін «пацієнти з рекурентними ГРЗ». При цьому, наприклад, у Великобританії та США до групи дітей з рекурентними респіраторними інфекціями відносять пацієнтів, у яких ГРЗ повто-

рюються протягом року понад 8 разів, а у Франції — понад 10 разів [15,25].

При повторних ГРЗ, поряд з інфікуванням новими мікроорганізмами, відбувається активація латентних, персистуючих, інфекцій вірусного, грибкового та бактерійного генезу, що ускладнює перебіг основного захворювання, сприяє хронізації патологічного процесу, посилює порушення в імунній системі. На сьогодні серед дитячого населення найчастіше спостерігається активація герпесвірусної інфекції, передусім Епштейн—Барра, інфекції, викликані вірусами герпесу 6 і 7 типів та інших імунотропних інфекцій.

За останні роки вітчизняними та зарубіжними вченими накопичений значний матеріал, що стосується вивчення факторів ризику та причин формування частих захворювань у дітей, принципів лікування, реабілітації та профілактики. Однак відсутня єдина думка щодо причин частотою захворюваності дітей. Ми вважаємо, що це пов'язано з недостатнім вивченням особливостей імунологічних порушень, особливо місцевого мукозального імунітету, у таких дітей. Відсутня систематизація вже отриманих даних з урахуванням як динаміки регуляторних адаптивних процесів, так і зміни екологічної ситуації, оточуючого мікропейзажу, структури інфекційних захворювань, домінуючої ролі вірусної інфекції, а особливо інфекцій, асоційованих з імунною системою, впливу інших епігенетичних факторів (зокрема харчових) на стан імунної системи дітей тощо.

Одним з найважливіших патогенетичних механізмів формування імунопатології у ДЧХ є порушення мукозального імунітету. Його оцінка практикуючими лікарями в сучасних умовах є недостатньою. Насамперед досліджується стан локального захисту систем MALT, NALT, BALT та їх взаємовідносини з мікробіотою.

Зниження активності факторів місцевого імунітету значною мірою сприяє розвитку вірусно-бактерійних

інфекцій, персистенції збудників і ремоделюванню уражених тканин. Водночас доведено, що антигени, які потрапили в шлунково-кишковий канал, контактують з В-лімфоцитами та різними імунорегуляторними Т-лімфоцитами лімфоїдної тканини GALT. Дозрілі, підготовлені до продукції sIgA, В-лімфоцити покидають GALT і через лімфатичну дренажну систему й селезінку розселяються у власну пластинку слизових оболонок різних органів — слинних залоз, бронхів, сечостатевого шляху, травного каналу, кон'юнктиву тощо, «озброюючи» велику кількість слизових поверхонь проти антигенів, які знаходяться в навколишньому середовищі (у т.ч. мікроорганізмів, алергенів) [2,9].

Потребує також удосконалення тактика лікувально-реабілітаційних заходів, передусім тих, що скеровані на нормалізацію функціонування місцевого імунітету, складові якого першими вступають у боротьбу з інфекційними агентами. Усе це вимагає розробки нових підходів до діагностики, лікування й реабілітації таких пацієнтів з використанням препаратів комплексної етіопатогенетичної дії, які посилюють місцевий імунітет, мають імунорегуляторний вплив, володіють високою ефективністю і є безпечними при застосуванні у педіатричній практиці.

Тому останнім часом, з метою зменшення частоти та важкості перебігу ГРЗ, дослідники зосередили увагу на застосуванні пробіотиків, пребіотиків та симбіотиків. Застосування симбіотиків є більш ефективним, оскільки їх пребіотичні компоненти призводять до більш швидкої та стійкої інтеграції та колонізації пробіотичними штамми слизової кишки людини. Результати проведених рандомізованих плацебо-контрольованих досліджень показали, що застосування цих препаратів на 27–31% зменшують частоту всіх інфекційних захворювань, у тому числі частоту ГРЗ, а також сприяють: 1) підвищенню фагоцитарної активності фагоцитів завдяки посиленню експресії на поверхні цих клітин рецепторів CR1, CR3, FcγRIII та FCαR, що полегшувало розпізнавання ними патогенів [20,22]; 2) підвищенню продукції IL-12 та IL-15, які є ключовими цитокінами для дозрівання та активації натуральних кілерів [28,30]; 3) підвищенню рівня сироваткового IgA через вплив пробіотичної флори на лімфоїдну тканину GALT; 4) зниженню активності CD4+ -лімфоцитів та продукції прозапальних цитокінів, у тому числі фактора некрозу пухлин альфа (ФНП-α) [26,27,31].

Результати досліджень показують, що застосування пробіотичних бактерій, з одного боку, чинить імуностимулюючий вплив на імунітет, з іншого — пригнічує імунну відповідь у разі її гіперактивності, тобто здійснює імунорегуляторний вплив, працюючи з різними видами іммунокомпетентних клітин. Кишкова мікробіота активно впливає на перебіг різних патологічних станів, у т.ч. на швидкість досягнення стійкої ремісії при частих рецидивних захворюваннях.

Найбільш важливою серед регуляторних клітин є унікальна лінія регуляторних Т-лімфоцитів (Treg), які контролюють запальну реакцію та специфічну імунну відповідь на інфекційний агент [1,4,21,29]. Описано дві субпопуляції Treg-клітин: 1) природні (натуральні) антиген-неспецифічні Treg-клітини тимусного походження; 2) адаптивні антиген-специфічні Treg-клітини, які виникають у процесі імунної відповіді. Природні антиген-неспецифічні CD4+CD25+Foxp3+ Treg-клітини відіграють ключову роль у контролі толерантності до власних антигенів через пригнічення аутореактивних Т-лімфоцитів, попередження аутоімунних процесів, обмежують активацію CD4+ і CD8+ Т-лімфоцитів тощо. Індуковані антиге-

ном CD4+Treg-клітини різняться між собою умовами активації, фенотипом і механізмами супресивного впливу. Серед цієї субпопуляції виділяють: 1) адаптивні CD4+CD25+Foxp3+ Treg-клітини, які за фенотипом і механізмом впливу на клітини-мішені не відрізняються від природних Treg; 2) Treg 1 — CD4+CD25-Foxp3- — володіють дистанційним супресивним впливом на клітини-мішені через синтез IL-10; 3) Treg 2 — CD4+CD25-Foxp3- (раніше позначалися як Th3) — володіють дистанційним супресивним впливом на клітини-мішені через синтез TFP-β.

Отже, імунна відповідь проти збудників інфекції знаходиться під контролем спочатку натуральних CD4+CD25+Foxp3+, які апіорі вже присутні в організмі, а згодом — індукованих у ході адаптивної імунної відповіді CD4+CD25-Foxp3- [23,33,36,37].

До симбіотиків, що застосовуються у дітей з двомісячного віку, належить Флувір у вигляді саше. Одне саше симбіотика Флувір містить: *Lactobacillus rhamnosus* LR04 (2,5 млрд), *Lactobacillus rhamnosus* LR05 (2,5 млрд), *Bifidobacterium lactis* BS01 (5 млрд), *Lactobacillus plantarum* LP01 (2,5 млрд), *Lactobacillus plantarum* LP02 (2,5 млрд), фруктоолігосахариди (ФОС). Симбіотик Флувір для дітей містить половинні концентрації зазначених елементів [5]. Пребіотична складова ФОС є синергістом, що прискорює колонізацію кишки та закріплення у ній пробіотичних бактерій, які входять до складу Флувіра. Важливо, що кожен з компонентів симбіотика виявляє позитивний вплив на основні ланки імунної системи. Доведено, що вживання *L. rhamnosus* підвищувало активність фагоцитозу макрофагів та нейтрофілів на 19% та активність натуральний кілерів на 71%. Вказані ефекти дещо слабшали після відміни терапії, проте тривалий час залишалися вищими за вихідний рівень [34].

**Мета** дослідження: оцінити вплив Флувіру на регуляторні показники імунної системи дітей молодшого шкільного віку, що часто хворіють, у період нестійкої ремісії респіраторних захворювань.

### Матеріал і методи дослідження

Під нашим спостереженням знаходилися 40 дітей (26 (65%) хлопчиків і 14 (35%) дівчаток) молодшого шкільного віку (6–11 років), які на основі даних анамнезу, результатів клінічного, інструментального, лабораторного обстеження були віднесені до диспансерної групи ДЧХ з частотою ГРЗ понад 8 разів на рік. Усі хворі знаходилися на амбулаторному лікуванні у Західноукраїнському Центрі клінічної імунології та алергології протягом 2013 року.

У пацієнтів було діагностовано: синдром лімфаденопатії — у 19 (47,5%) осіб; синдром хронічної втоми — у 32 (80,0%); тривалий субфебриліт — у 4 (10,0%); синдром дисбіозу — у 3 (7,5%); синдром респіраторних імунодефіцитних порушень з проявами хронічного тонзиліту, отиту, риносинуситу — у 19 (47,5%); алергопатологія з проявами IgE-залежного атопічного дерматиту, алергічного риніту — у 5 (12,5%). У 17 (68%) пацієнтів спостерігалась асоціація вищевказаних синдромів.

При проведенні клінічного огляду хворих пальпувалися передньо-, задньощийні та підщелепові лімфатичні вузли діаметром до 1,5 см, м'яко-еластичні, рухомі, дещо болючі при пальпації у шести хворих. У 25 (62,5%) пацієнтів виявлена гіперемія слизової задньої стінки глотки та мигдаликів, які в 17 (68,0%) були гіпертрофованими.

Симбіотик «Флувір» (дитячий) призначався усім хворим по одному саше два рази на день перед прийомом їжі.

Таблиця  
Кількість регуляторних та активованих лімфоцитів у крові дітей, що часто хворіють, до та після вживання Флувіру (M±m)

Показник		1 візит (до лікування)	2 візит (після лікування)
лейкоцити	Г/л	5,79±0,18	6,11±0,19
лімфоцити	%	43,23±0,76	38,03±0,75**
CD25 <sup>+</sup>	%	13,75±1,10	8,33±0,74**
	abs	349,06±32,52	188,51±17,22**
CD3 <sup>+</sup> /HLA-DR <sup>+</sup>	%	6,45±0,60	6,73±0,51
	abs	161,12±16,88	151,79±10,80
CD3 <sup>-</sup> /HLA-DR <sup>+</sup>	%	13,90±0,75	14,43±0,77
	abs	347,83±22,52	336,84±25,22
CD4 <sup>+</sup> /CD25 <sup>+</sup>	%	8,30±0,81	5,58±0,54*
	abs	201,31±18,98	125,50±11,49**
CD4 <sup>+</sup> /CD25 <sup>-</sup>	%	28,85±1,28	32,78±1,29*
	abs	715,91±39,19	756,69±38,59

Примітка: \*p<0,05, \*\*p<0,01 – вірогідність різниці показників до та після вживання Флувіру.

Курс прийому Флувіру становив один місяць. Пацієнти не отримували іншої супровідної терапії. Дослідження проводилися до початку та після закінчення вживання Флувіру (через місяць). Окрім загального аналізу крові, проводилися імунологічні дослідження. Для оцінки функціональних показників імунної системи досліджували рівень секреторного IgA (sIgA) у слині, концентрацію у сироватці крові α-інтерферону (ІНФ-α), імуноглобулінів IgA і IgE, інтерлейкіну-17 (ІЛ-17); визначали число активованих лімфоцитів з маркерами CD25<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>, CD3<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>, CD3<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>.

Для оцінки числа регуляторних та активованих лімфоцитів використовували метод проточної цитофлюориметрії та моноклональні антитіла (Bekton Dickenson, США). Концентрацію ІНФ-α, ІЛ-17, IgA загальний у крові і IgA секреторний у слині досліджували методом імуоферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-систем фірми «Вектор Бест», а рівень IgE крові – на тест-системах фірми «Гранум» (Харків, Україна).

Оцінка ефективності досліджуваного препарату проводилася лікарем на основі скарг пацієнта, ступеня регресії клінічних проявів захворювання, показників клітинного та гуморального імунітету.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою статичної програми Statistika for Windows 6.0, використовуючи критерій Стьюдента.

### Результати дослідження та їх обговорення

Після місячного курсу вживання Флувіру у всіх хворих з субфебрилітетом температура нормалізувалася. Загальна слабкість та підвищена втомлюваність зменшилась на 68,8% і після лікування спостерігалася тільки у 10 хворих; явища риніту зменшилися на 77,0%; біль та дертя в горлі – на 75,0%; гіперемія задньої стінки глотки та мигдаликів зменшилась (на 76,0%) у 19 пацієнтів. Через місяць спостереження та лікування у 10 (25,0%) ДЧХ спостерігалось зменшення лімфатичних вузлів, насамперед підщелепових. Гіпертрофія мигдаликів мала лише тенденцію до зменшення у двох хворих.

Отже, 20 (50,0%) пацієнтів вказували на значне покращання загального стану, причому у 10 (25,0%) з них спостерігалася повна регресія клінічних проявів на тлі відсутності скарг; 8 (20,0%) пацієнтів вказували на незначне покращання, а 5 (12,5%) – на відсутність ефекту.

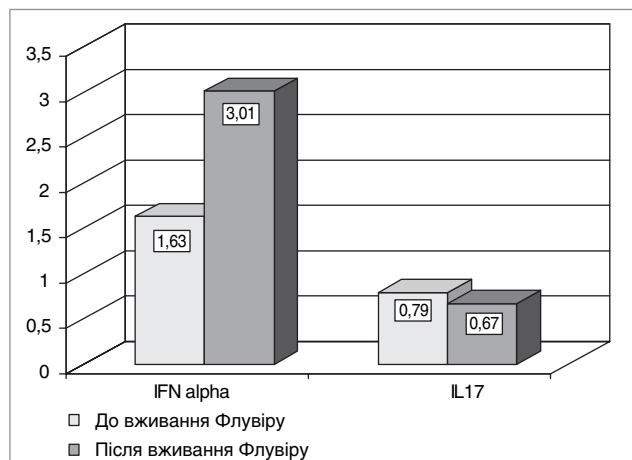


Рис. 1. Особливості сироваткових рівнів ІНФ-α та ІЛ 17 до та після вживання Флувіру у дітей, що часто хворіють

У 7 (17,5%) пацієнтів спостерігалось погіршення стану через супутню патологію: у трьох – ГРВІ з гарячкою; в одного – гострий тонзиліт; в одного – краснуха, у двох – харчова токсикоінфекція.

Таким чином, одномісячний курс вживання Флувіру сприяв покращанню загального стану та регресії клінічних проявів у 70% пацієнтів; позитивний ефект був відсутнім у 30,0% хворих. Основними побажаннями пацієнтів, які приймали Флувір, особливо за наявності алергічних хвороб, було випускати препарат без запаху і смаку.

Важливими даними, які можуть вказувати на ефективність вживання Флувіру, є дані лабораторних аналізів, передусім показники стану імунної системи. З результатів загального аналізу крові було встановлено, що після вживання Флувіру у пацієнтів вірогідно збільшилась абсолютна кількість сегментоядерних нейтрофілів (до вживання Флувіру – 45,95±0,83%, після вживання Флувіру – 50,20±0,79%, p<0,01) та зменшилось абсолютне число лімфоцитів (43,23±0,76% і 38,03±0,75% відповідно, p<0,01). Окрім загального аналізу крові, до та після вживання Флувіру проводилось дослідження кількості активованих та регуляторних лімфоцитів.

Як видно з таблиці, кількість лімфоцитів пізньої стадії активації (CD3<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> і CD3<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>) була не-

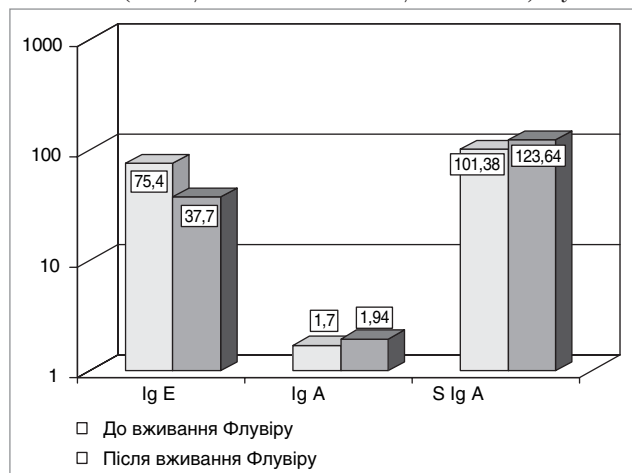


Рис. 2. Особливості сироваткових рівнів ІgЕ і ІgА та SІgА у слині до та після вживання Флувіру у дітей, що часто хворіють

змінною як до, так і після вживання Флувіру ( $p > 0,05$ ). Кількість Т-регуляторних лімфоцитів ( $CD4^+/CD25^+$ ) вірогідно зменшувалася як у відносних (до вживання Флувіру —  $8,30 \pm 0,81\%$ , після вживання Флувіру —  $5,58 \pm 0,54\%$ ,  $p < 0,05$ ), так і в абсолютних цифрах (до вживання Флувіру —  $201,31 \pm 18,98$ , після вживання Флувіру —  $125,50 \pm 11,49$ ,  $p < 0,01$ ). Натомість кількість Т-хелперів  $CD4^+/CD25^-$  вірогідно збільшувалася, передусім у відносних цифрах (до вживання Флувіру —  $28,85 \pm 1,28\%$ , після вживання Флувіру —  $32,78 \pm 1,29\%$ ,  $p < 0,05$ ). Кількість інших активованих Т-лімфоцитів ( $CD25^+$ ) також вірогідно знижувалася (до вживання Флувіру —  $13,75 \pm 1,10\%/349,06 \pm 32,52$ , після вживання Флувіру —  $8,33 \pm 0,74\%/188,51 \pm 17,22\%$ ,  $p < 0,01$ ).

Для більш детальної характеристики регуляторної захисної системи організму було проведено дослідження концентрації ІЛ-17, а для визначення стану мукозальної системи — sIgA, IgE, IgA, протівірусного захисту — ІНФ- $\alpha$ .

Як видно з наведених на рис. 1 даних, у пацієнтів після вживання Флувіру спостерігалось зменшення рівня ІЛ-17 у 1,2 разу, однак без вірогідної різниці ( $p > 0,05$ ). Окрім того, після лікування спостерігалось вірогідне підвищення ІНФ- $\alpha$  (до вживання Флувіру —  $1,63 \pm 0,12$  пг/мл, після вживання Флувіру —  $3,01 \pm 0,64$  пг/мл,  $p < 0,05$ ).

Основний фактор захисту слизових — секреторний ІгА (sIgA) також вірогідно підвищувався після вживання Флувіру (до вживання Флувіру —  $101,38 \pm 0,97$  мг/л, після вживання Флувіру —  $123,64 \pm 2,49$  мг/л,  $p < 0,01$ ) (рис. 2). Концентрація іншого захисника слизових оболонок, ІгЕ, після вживання Флувіру зменшилася удвічі (до вживання Флувіру —  $75,40 \pm 17,19$  МО/мл, після вживання Флувіру —  $37,70 \pm 4,83$  МО/мл), однак невірогідно ( $p < 0,05$ ). Слід зазначити, що у чотирьох пацієнтів концентрація цього імуноглобуліну знаходилася на рівні верхньої межі норми, а у п'яти пацієнтів з atopією рівень ІгЕ виявився вищим за вікову норму і коливався в межах  $130-480$  МО/мл. Рівень сироваткового ІгА дещо збільшився, але невірогідно ( $p > 0,05$ ).

У нашому дослідженні спостерігалось зменшення абсолютного числа  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  клітин у 10 (25,0%) пацієнтів, що може стати причиною зниження локального і системного захисту, підвищення ризику формування хронічного імунозалежного запалення з наступним розвитком аутоімунних хвороб. Натомість після вживання Флувіру відносна кількість адаптивних антиген-специфічних  $CD4^+CD25^-Foxp3^-$  Treg-клітин збільшилася в середньому на 14% у 27 (67,5%) пацієнтів ( $p > 0,05$ ). Як уже зазначалося, ці клітини мають дистанційний супресивний вплив. Однак науковці припускають, що при зустрічі з інфекційними мікроорганізмами активність цих Treg-клітин може бути пригнічена для проведення успішної елімінації збудника з організму [4,29]. Тому отримані дані можуть вказувати на зниження супресивної та підвищення кілерної здатності Т-лімфоцитів, зменшення побічного пошкоджуючого впливу Th1-відповіді, ослаблення патофізіологічних проявів запальної реакції та розвиток більш раціональної імунної відповіді.

Антигенам HLA-DR відводиться ключова роль у регуляції активності антигенпрезентуючих клітин. Вони асоціюють з Т-клітинною активацією, відповідальні за презентацію антигенів Т-лімфоцитам та здатність цих клітин до активації, проліферації та диференціації. Після лікування Флувіром кількість  $CD3^+/HLA-DR^+$ -лімфоцитів була стабільною у 7 (17,5%) пацієнтів, знижувалася у 19 (47,5%) дітей і в середньому становила до вживання Флувіру  $6,45 \pm 0,60\%$ , після вживання Флувіру —  $6,73 \pm 0,51\%$  ( $p > 0,05$ ). Дослідженнями останніх років доведена наявність асоціації-

ваного зв'язку Treg-клітин з HLA-DR-антигенами. Доведено, що на  $CD4^+CD25^+$ -лімфоцитах наявна висока експресія HLA-DR-антигенів [4]. Результати наших досліджень показують, що після проведеного лікування на тлі стабільного числа  $CD3^+/HLA-DR^+$ -лімфоцитів число  $CD4^+CD25^+$ -клітин вірогідно знижувалося, що може вказувати на стабілізацію інфекційного процесу та зменшення ризику розвитку інфекційних ускладнень.

Кількість  $CD3^-/HLA-DR^+$ -лімфоцитів може характеризувати функціональну активність В-лімфоцитів, які здатні продуктивно працювати в ефекторній ланці імунної відповіді, як у ролі продуцентів антитіл, так і клітини з природною кілерною активністю. Такі активовані В-лімфоцити продукують не тільки різні типи цитотоксичних антитіл, але й широкий спектр медіаторів із цитотоксичними властивостями, що дозволяє цим клітинам здійснювати імунологічний нагляд, тобто виявляти цитотоксичну дію на клітини-мішені [10,13]. У нашому дослідженні після вживання Флувіру число цих клітин підвищувалося у 19 (47,5%) пацієнтів, знижувалося — у 18 (45,0%) осіб.

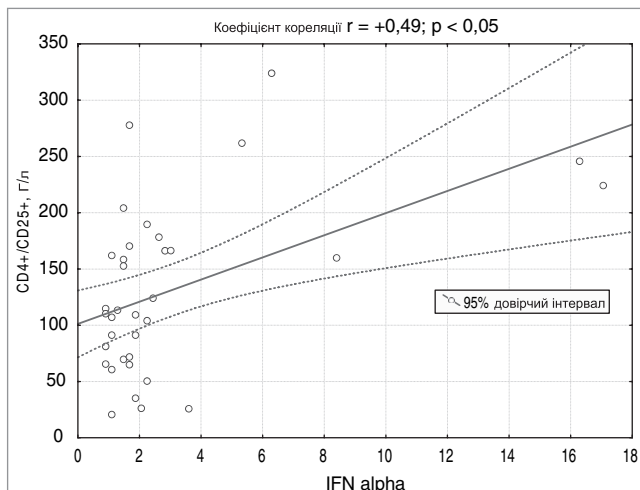
Кількість лімфоцитів, які експресували на своїй поверхні рецептор  $CD25$  до  $\alpha$ -ланцюга ІЛ-2, у 33 (82,5%) дітей була вірогідно зниженою у відносних і абсолютних значеннях у 1,7 і 1,9 разу відповідно. Такі зміни опосередковано можуть вказувати на зниження активності запального процесу та аутоімунної настороженості захисних систем організму, посилення фізіологічної регуляції специфічної імунної відповіді.

Інтерлейкін-17 відіграє важливу роль у захисті організму від грамнегативних бактерій, грибів (типу *Candida*) та здатний викликати розвиток аутоімунних та алергічних захворювань [7,30]. У результаті наших досліджень було встановлено, що після одномісячного курсу вживання Флувіру синтез цього цитокіну вірогідно не відрізнявся від вихідних показників (до лікування —  $0,79 \pm 0,07$  пг/мл, після лікування —  $0,67 \pm 0,08$  пг/мл,  $p > 0,05$ ). Однак індивідуальний аналіз отриманих даних вказував, що після лікування у 16 (40,0%) пацієнтів його рівень був стабільним, а у 12 (30,0%) знижувався у 1,4–14 разів.

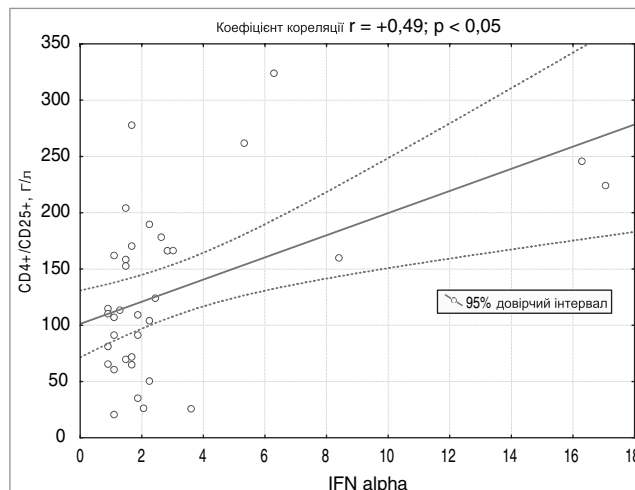
Отже, під впливом Флувіру у 70% пацієнтів відбувалася стабілізація різних запальних, у т.ч. аутоімунних, реакцій, а в деяких випадках спостерігалось посилення протівірусного імунітету, що так важливо для ДЧХ.

Дослідженнями було доведено, що різні субпопуляції ефекторних Т-хелперів перехресно регулюють кількість і функціональну активність один одного. Цікаву взаємодію демонструють між собою Т-регуляторні клітини і Th17 [8,32,35]. Регуляторні взаємовідносини показані й нашими дослідженнями: концентрація ІЛ-17 асоціювала з підвищеною кількістю адаптованих Treg-клітин, число яких, на нашу думку, пов'язано з інтенсивною продукцією ТФР- $\beta$ , що підтверджується вірогідним підвищенням синтезу sIgA. Вказані зміни імунологічних показників сприяли не лише посиленню мукозального імунітету, але й активації специфічного клітинного захисту.

На мембрані  $CD4^+CD25^+$  Т-лімфоцитів експресовані Toll-like-рецептори (TLR-4, TLR-5, TLR-7, TLR-8), які розпізнають консервативні структури на поверхні бактерій і вірусів, здійснюють регуляцію функціонального імунітету проти цих збудників, пригнічуючи патологічну імунну відповідь. Повторні інфекції, які спостерігалися у наших пацієнтів, не тільки можуть посилювати імунітет, поповнюючи пул Т-лімфоцитів, але й підвищувати супресивну активність  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  [4,29]. Особливо важлива роль цих клітин у мукозальній імунній системі шлунково-кишкового каналу, через який в організм надхо-



**Рис. 3.** Взаємозв'язок абсолютної кількості CD4+CD25+ - лімфоцитів та рівня ІНФ- $\alpha$  у хворих після вживання Флувіру



**Рис. 4.** Взаємозв'язок відносної кількості сегментоядерних нейтрофілів та рівня sIgA у хворих після вживання Флувіру

дять значна кількість чужорідних речовин, у т.ч. алергенів. Результати нашого дослідження показали, що застосування одномісячного курсу Флувіру асоціювало з вірогідним ( $p < 0,01$ ) збільшенням продукції секреторного sIgA на 23% у 35 (87,5%) хворих, що вказувало на посилення активності мукозального захисту. Рівень сироваткового IgA також збільшувався або був стабільним у 28 (70,0%) дітей, однак невірогідно ( $p > 0,05$ ).

Основна фізіологічна функція IgE — захист зовнішніх слизових оболонок організму шляхом локальної активації факторів плазми та ефektorних клітин завдяки індукції гострої запальної реакції. Інфекційні агенти, здатні прорвати лінію оборони, утворену sIgA, зв'язуються зі специфічними IgE на поверхні тучних клітин, у результаті чого останні отримують сигнал до вивільнення вазоактивних амінів, різних цитокінів, у т.ч. хемотаксичних факторів. У нашому дослідженні застосування Флувіру протягом одного місяця сприяло вірогідному зниженню IgE удвічі ( $p < 0,05$ ). Після закінчення вживання Флувіру у трьох з чотирьох пацієнтів, у яких концентрація IgE знаходилася на верхній межі норми, його рівень нормалізувався та відповідав віковій нормі. У двох із п'яти пацієнтів з атопією концентрація загального IgE зменшилася в середньому у 1,3 разу, однак залишалася вищою за вікову норму. Отже, зниження рівня загального IgE спостерігалось у 58,6% пацієнтів, у яких концентрація цього імуноглобуліну перед вживання Флувіру була підвищеною.

На посилення захисних механізмів дитячого організму, у т.ч. протівірусного імунітету, в наших пацієнтів також вказувала активація синтезу ІНФ- $\alpha$ , концентрація якого після застосування Флувіру збільшилася у 1,9 разу у 20 (50%) обстежених. Виявлена пряма кореляційна залежність між абсолютною кількістю CD4+CD25+ -лімфоцитів і рівнем ІНФ- $\alpha$  ( $r = +0,49, p < 0,05$ ) та між відносною кількістю сегментоядерних нейтрофілів і рівнем sIgA ( $r = +0,40, p < 0,05$ ) у хворих після вживання Флувіру (рис. 3, 4).

Таким чином, на основі отриманих даних можна оцінити ефективність вживання Флувіру у ДЧХ як помірну, з позитивною динамікою вивчених показників імунної системи в середньому у 58,6% пацієнтів. Ми рекомендуємо використовувати Флувір протягом двох-трьох місяців під контролем імунологічних показників.

### Висновки

- Одномісячний курс вживання Флувіру сприяв:
  - покращанню загального стану та регресії клінічних проявів у 70% пацієнтів, погіршанню — у 17,5%; відсутність ефекту спостерігалася у 12,5% осіб;
  - покращанню показників регуляторних імунологічних механізмів на 58,6%;
  - посиленню мукозального імунітету, на що вказувало збільшення sIgA у слині та сироваткового IgA у сироватці крові у 42,2% пацієнтів;
  - зниженню алергологічної настороженості, на що вказують стабілізація (44,4%) чи зниження синтезу IgE (у 55,6%);
  - посиленню протівірусного імунітету через індукцію синтезу ІНФ- $\alpha$  (40,0% випадків) та активацію CD3+/HLADR+ -лімфоцитів з природною кілерною активністю (47,5%);
- Підвищення кількості CD4+/CD25-, зниження CD25+ -лімфоцитів на тлі стабільного числа CD3+/HLADR+ -клітин свідчить про посилення регуляторної здатності адаптивної імунної відповіді, стабілізацію антигенпрезентуючих процесів, зменшення активності запального процесу та аутоімунної настороженості захисних систем організму.
- Виявлена пряма кореляційна залежність між абсолютною кількістю CD4+CD25+ -лімфоцитів і рівнем ІНФ- $\alpha$  ( $r = +0,49, p < 0,05$ ) та між відносною кількістю сегментоядерних нейтрофілів і рівнем sIgA ( $r = +0,40, p < 0,05$ ) у хворих після вживання Флувіру.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Быковская С. Н. Роль дефектов иммуносупрессии в развитии аутоиммунных заболеваний / С. Н. Быковская, Е. Л. Насонов // Научн. прак. ревматол. — 2005. — № 4. — С. 81—84.
2. Возрастные особенности иммунитета у детей. Лекция для врачей / Щеплягина Л. А., Чернова В. М., Круглова И. В., Делягин В. М. — М., 2008. — С. 38.
3. Гаращенко Т. І. Оцінка ефективності Анаферон дитячого в неспецифічної профілактики ГРВІ у молодших школярів / Т. І. Гаращенко, Л. І. Ільєнко, М. В. Гаращенко // Лікуючий лікар. — 2006. — № 2. — С. 87—88.
4. Железнякова Г. Ф. Регуляторные Т-лимфоциты в иммунном ответе на инфекцию / Г. Ф. Железнякова // Журнал инфектологии. — 2011. — Т. 3, № 1. — С. 6—12
5. Інструкції з використання симбіотиків Флувір та Флувір для дітей.
6. Интерферон та імунотерапія в практиці лікування часто і тривало хворіючих дітей і дорослих / Нестерова І. В., Малиновська В. В., Тараканов В. А. [та ін.]. — М., 2004. — 160 с.
7. Кетлинский С. А. Семейство цитокинов IL-17 и его биологические функции / С. А. Кетлинский // Мед. акад. журн. — 2006. — № 2. — С. 12—27.
8. Кологривова И. В. Молекулярные аспекты функционирования Т-хелперов 17-го типа / И. В. Кологривова, Е. Н. Кологривова, Т. Е. Сусллова // Бюл. сибирской медицины. — 2011. — № 4. — С. 93—99.
9. Лазарева Т. С. Желудочно-кишечный тракт, микрофлора и иммунитет / Т. С. Лазарева, Ф. Ф. Жвания // Педиатрич. фармакол. — 2009. — Т. 6, № 1. — С. 46—49.
10. Ломакин М. С. В-лимфоциты: киллерные функции / М. С. Ломакин // Иммунология. — 1990. — № 6. — С. 4—7.
11. Маркова Т. П. Тривало та часто хворіючі діти [Електронний ресурс] / Т. П. Маркова, Д. Г. Чувіров // Педіатрія. — Режим доступу: [i\\_medic.com.ua](http://i_medic.com.ua)
12. Намазова Л. С. Новые возможности иммуномодулирующей терапии часто болеющих детей / Л. С. Намазова // Практика педиатра. — 2008. — № 1. — С. 78—82.
13. Новый препарат в лечении хронического гепатита С / Корнилина Е. М., Николаенко А. Н., Вовк А. Д. [и др.] // Вісн. фармакології та фармації. — 2005. — № 5. — С. 24—27.
14. Робертсон Дж. Справочник для педиатров / Дж. Робертсон, Н. Шилковски; пер. с англ. под ред. Н. А. Геппе. — М., 2008. — 1400 с.
15. Самсыгина Г. А. Часто болеющие дети: проблемы диагностики, патогенеза и терапии / Г. А. Самсыгина, Г. С. Коваль // Леч. Врач. — 2009. — № 1. — С. 10—15.
16. Самсыгина Г. Часто болеющие дети: проблемы патогенеза, диагностики и терапии / Г. Самсыгина // Педиатрия. — 2005. — № 1. — С. 66—77.
17. Таточенко В. К. Практическая пульмонология детского возраста: справ. / В. К. Таточенко. — М.: Медицина, — 442 с.
18. Часто болеющие дети / Альбицкий В. Ю., Баранов А. А., Камаев И. А. [и др.]. — Н. Новгород: НГМА, 2003.
19. Юлиш Е. И. Факторы местного иммунитета при респираторных инфекциях и методы их активации / Е. И. Юлиш // Здоровье ребенка. — 2010. — № 5 (26). — С. 63—67.
20. A formula containing galacto- and fructooligosaccharides prevents intestinal and extra-intestinal infections: an observational study / Bruzzese E., Volpicelli M., Squeglia V. [et al.] // Clinical Nutrition. — 2009. — Vol. 28. — P. 156—161.
21. Annacker O. On the ontogeny and physiology of regulatory T cells / O. Annacker, R. Pimenta-Araujo, O. Burlen-Defranoux // Immunol. Rev. — 2001. — Vol. 182. — P. 5—17.
22. Boroja M. L. Anti-inflammatory effects of probiotic yohgurt in inflammatory bowel disease patients / M. L. Boroja, P. V. Kirjavagen, S. Hekmat // Clinical and experimental immunology. — 2007. — Vol. 149. — P. 470—479.
23. Chabenoud I. Supressor T-cells - they are back and critical for regulation of autoimmunity / I. Chabenoud, B. Salomon, J. Bluestone // Immunol. Rev. — 2001. — Vol. 182. — P. 149—163.
24. Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children / Fukushima Y., Kawata Y., Hara H. [et al.] // International Journal of Food Microbiology. — 1998. — Vol. 42. — P. 39—44.
25. Human milk probiotic Lactobacillus fermentum CECT5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants / Maldonado J., Canabate F., Sempere L. [et al.] // Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. — 2012. — Vol. 54. — P. 55—61.
26. Incidence of infectious diseases in infants fed follow-on formula containing synbiotics: an observational study / Picaud J. C., Chaplain V., Paineau D. [et al.] // Acta Paediatrica. — 2010. — Vol. 99. — P. 1695—1700.
27. Interleukin-12 is involved in the enhancement of human natural killer cell activity by Lactobacillus casei Shirota / Takeda K., Suzuki T., Shimada S. I. [et al.] // Clinical and Experimental Immunology. — 2006. — Vol. 146. — P. 109—115.
28. Kvaerner K. J. Upper respiratory morbidity in preschool children: a cross-sectional study / K. J. Kvaerner, P. Nafstad, J. J. Jaakola // Arch. Otolaryngol. Head. Neck. Surg. — 2000. — Vol. 126, № 10. P. 1201—1206.
29. Low frequency of CD4+CD25+ Treg in SLE patients: a heritable trait associated with CTLA4 and TGFβ gene variants / Barreto M., Ferreira Ricardo C, Lourenco L. [et al.] // BMC Immunology. — 2009. — Vol. 10:5 doi:10.1186/1471—2172—10—5
30. Mills K. H. Induction, function and regulation of IL-17-producing T cells / K. H. Mills // Eur. J. Immunol. — 2008. — Vol. 38 (10). — P. 2636—2649.
31. Natural killer cell activities of synbiotic Lactobacillus casei ssp. casei in conjunction with dextran / Ogawa T., Asai Y., Tamai R. [et al.] // Clinical and Experimental Immunology. — 2006. — Vol. 143. — P. 103—109.
32. O'Connor W. The dual nature of Th17 cells: shifting the focus to function / W. O'Connor, L. A. Zenewicz, R. A. Flavell // Nature Immunology. — 2010. — Vol. 11, № 6. — P. 471—476.
33. Sakaguchi S. Immunologic tolerance maintained by CD25+CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance / S. Sakaguchi, N. Sakaguchi, J. Shimizu // Immunol. Rev. — 2001. — Vol. 182. — P. 18—32.
34. Sheih Y. H. Systemic immunity-enhancing effects in healthy subjects following dietary consumption of the lactic acid bacterium Lactobacillus rhamnosus HN001 / Y. H. Sheih, B. L. Chiang, L. H. Wang // Journal of American College of Nutrition. — 2001. — Vol. 20. — P. 149—156.
35. Th17 cells in human disease? / Tesmer L. A., Lundy K., Sarkar S., Fox D. A. // Immunological Reviews. — 2008. — Vol. 223. — P. 87—113.
36. Umetsu D. T. Regulatory T cells control the development of allergic disease and asthma / D. T. Umetsu, O. Akbari, R. H. Dekruyff // J. Allerg. Clin. Immunol. — 2003. — Vol. 112. — P. 480—487.
37. Wood K. J. Regulatory T cells in transplant tolerance / K. J. Wood, S. Sakaguchi // Nat. Rev. Immunol. — 2003. — № 3. — P. 199—210.

**Исследование регуляторных иммунных механизмов и возможностей их коррекции у часто болеющих детей**

*В.В. Чопяк, Г.А. Потемкина, Л.Н. Билянская, И.И. Криль, М.В. Мзурак, К.А. Лищук-Якимович*

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина

**Цель:** оценить влияние симбиотика Флувира на регуляторные показатели иммунной системы у часто болеющих детей младшего школьного возраста в период нестойкой ремиссии респираторных заболеваний.

**Пациенты и методы.** Под наблюдением находились 40 детей младшего школьного возраста (6–11 лет), которые на основании данных анамнеза, результатов клинического, инструментального, лабораторного обследования были отнесены к диспансерной группе часто болеющих с частотой респираторных заболеваний свыше восьми раз в год. Все больные получали препарат «Флувир» (детский) курсом один месяц. Исследования проводились до начала и после окончания лечения Флувиром.

**Результаты.** На фоне применения Флувира произошло улучшение общего состояния и регрессия клинических проявлений у 70% пациентов; усиление мукозального, противомикробного, в том числе противовирусного, иммунитета, регуляторной способности адаптивного иммунного ответа; стабилизация антигенпрезентирующих процессов, уменьшение активности воспалительного процесса и аутоиммунной настроенности защитных систем организма.

**Выводы.** На основании полученных данных можно оценить эффективность симбиотика Флувира как умеренную, с положительной динамикой изученных показателей иммунной системы в среднем у 58,6% пациентов. Выявленные нарушения в иммунной системе часто болеющих детей могут стать предиктором развития аутоиммунных болезней. Поэтому рекомендовано использовать Флувир в течение двух-трех месяцев под контролем иммунологических показателей.

**Ключевые слова:** часто болеющие дети, регуляторные иммунологические механизмы, мукозальный иммунитет, симбиотик Флувир.

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA.2015.3(67):85-91; doi10.15574/SP.2015.67.85

**Immune regulatory mechanisms studies and their possible correction in frequently ill children**

*V.V. Chopyak, G.A. Potemkina, L.N. Bilyanskaya, I.I. Kriil', M.V. Mzurak, K.A. Lishchuk-Yakimovich*

Danylo Galytskyi Lviv National Medical University, Ukraine

**Objective:** To evaluate the effect of Fluvir symbiotic on the regulatory parameters of the immune system in frequently ill children of primary school age in the period of unstable remission of respiratory diseases.

**Patients and methods.** A total of 40 children of primary school age (6-11 years) were under observation. According to the basis of medical history, the results of clinical, instrumental and laboratory examinations they were related to the dispensary group of frequently ill children with the frequency more than eight times a year. All patients had received «Fluvir» (kid) by course of one month. The studies were conducted before and after treatment by Fluvir.

**Results.** Due to the application of Fluvir was improved the general condition and regression of clinical manifestations in 70% of patients; increasing of mucosal, anti-infective and also antiviral immunity, the regulatory ability of the adaptive immune response; antigen-presenting processes, reduction of the inflammatory process and autoimmune alertness of protective systems.

**Conclusions.** On the base of obtaining data the effectiveness of Fluvir symbiotic can be evaluated as moderate, with the positive dynamics of the studied parameters of the immune system, at an average of 58.6% of patients. These disorders of the immune system in frequently ill children can be a predictor of the development of autoimmune diseases. Therefore, it is recommended to use Fluvir within two- three months under the supervision of immunological parameters.

**Key words:** frequently ill children, immunological regulatory mechanisms, mucosal immunity, Fluvir symbiotic.

**Сведения об авторах:**

**Чопьяк Валентина Владимировна** — Заслуженный врач Украины, д.мед.н., проф., зав. каф. клинической иммунологии и аллергологии Львовского национального медицинского университета им. Д. Галицкого.

Адрес: г. Львов, ул. Пекарская, 69б; тел. (032) 275-61-42.

**Криль И.И.** — ст. лаборант каф. клинической иммунологии и аллергологии Львовского национального медицинского университета им. Д. Галицкого. Адрес: г. Львов, ул. Пекарская, 69б; тел. (032) 275-61-42.

**Билянская Л.М.** — Львовский национальный медицинский университет им. Д. Галицкого.

Адрес: г. Львов, ул. Пекарская, 69б; тел. (032) 275-61-42.

**Мазурак М.В.** — Львовский национальный медицинский университет им. Д. Галицкого.

Адрес: г. Львов, ул. Пекарская, 69б; тел. (032) 275-61-42.

**Лищук-Якимович Х.О.** — Львовский национальный медицинский университет им. Д. Галицкого.

Адрес: г. Львов, ул. Пекарская, 69б; тел. (032) 275-61-42.

Статья поступила в редакцию 27.03.2015 г.