

FEATURES OF T-HELPER IMMUNE RESPONSE IN YOUNG CHILDREN WITH CONGENITAL CLEFT LIP AND PALATE IN ACUTE PNEUMONIA

A.L.Aliev¹  Z.S.Kamalov²  R.A.Akhrokhonov³ 

1. Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan.

2. Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan.

3. Andijan State Medical Institute, Andijan, Uzbekistan.

OPEN ACCESS

IJSP

Correspondence

Akhrorkhonov Rustamkhon
Akmalkhon ugli, Andijan State
Medical Institute, Andijan,
Uzbekistan.

e-mail: rustamxonaxrorxonov@gmail.com

Received: 24 January 2025

Revised: 28 January 2025

Accepted: 01 February 2025

Published: 05 February 2025

Funding source for publication:
Andijan state medical institute and
I-EDU GROUP LLC.

Publisher's Note: IJSP stays
neutral with regard to jurisdictional
claims in published maps and
institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the
authors. Licensee IJSP, Andijan,
Uzbekistan. This article is an open
access article distributed under
the terms and conditions of the
Creative Commons Attribution
(CC BY-NC-ND) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Abstract.

A significant proportion of children with repeated acute respiratory infections (ARI) and recurrent chronic diseases of the respiratory tract and ENT organs are carriers of co-infections. Objective: to study the synthesis of key cytokines Th-1/ Th-2/ Th-17 types of immune responses in children with congenital cleft lip and palate in acute pneumonia. Material and methods: the present study included 38 children with an established diagnosis of acute pneumonia (18 infants with CCLP and 20 children without CCLP formed the comparison group) and 16 practically healthy children formed the control group. The concentration of interleukins and interferon-gamma in the blood serum was determined by solid-phase enzyme immunoassay using test systems of Vector-Best JSC (Novosibirsk, Russia). Results: It was found that in the groups of children with pneumonia, both with cleft lip and palate and without congenital pathology, there was a significant increase in the content of IL-17A, IL-4 in the peripheral blood and a deficiency of IFN- γ in children of the first year of life, which indicates an imbalance in the immune response that can affect the course and severity of the infection. Conclusions: The study of the cytokine profile in a comparative aspect revealed hypersecretion of key mediators of the Th2 and Th17 immune response (IL-4 and IL-17A) and a deficiency in the synthesis of the key antiviral cytokine Th1 immune response (IFN γ) in all groups of children with pneumonia.

Key words: infants, cleft lip and palate, pneumonia, interferon, interleukin, serum, imbalance.

На сегодняшний день в исследованиях и в работах исследователей 24 % детей из диспансерной группы «часто и длительно болеющих» с высокой степенью частоты страдают возвратными респираторными инфекциями на фоне различных нарушений иммунной системы [3]. Так, значительная часть детей с повторными острыми респираторными инфекциями (ОРИ) и рецидивирующими хроническими заболеваниями респираторного тракта и ЛОР-органов является носителями коинфекций [2,4].

Сходные клинические признаки иммунной недостаточности в виде частой повторяемости ОРИ у детей с ВРГН дают основание полагать наличие у данной группы детей дефектного функционирования иммунной системы. Совершенно очевидно, что решение проблемы частой респираторной заболеваемости у детей с ВРГН и определение дальнейшей терапевтической тактики требуют комплексного патогенетического подхода, включающего оценку особенностей функционирования иммунной системы и, опираясь на полученные данные, разработки новых иммунотерапевтических подходов, направленных на коррекцию выявленных нарушений иммунной системы. Между тем в научной литературе встречаются единичные данные, отражающие состояние местного и системного иммунитета у детей с ВРГН. Так, показано, что при расщелинах губы/нёба физиологическая недостаточность иммунной системы и анатомическая ее компрометация приводят к резкой напряженности еще незрелого механизма поддержания гомеостаза у детей [1].

Несомненно, данные о состоянии системы врожденного и адаптивного иммунитета больных с ВРГН имеют важное прогностическое значение для успешного проведения этапов реабилитации. При этом нередко неоднозначные, а иногда и противоречивые данные научной литературы обуславливают интерес к оценке особенностей функционирования иммунной системы у контингента пациентов раннего

возраста с ВРГН.

Не смотря на множество проведенных работ и исследований, иммунный ответ, у детей до года с ВРГН, при острой пневмонии остаётся нераскрытым и данный процесс еще предстоит полностью выяснить. Вместе с тем, характер нарушений иммунитета на отдельных этапах воспалительного процесса изучены недостаточно полно и трактуются неоднозначно. Поэтому, представляет интерес изучение цитокинового звена иммунитета, так как ими регулируется сила, продолжительность иммунного ответа и характер воспалительного процесса, обеспечивающий позитивную и негативную иммунорегуляцию.

На основании вышесказанного целью настоящего исследования было изучение синтеза ключевых цитокинов Th-1/ Th-2/ Th-17 типов иммунных ответов у детей с врожденными расщелинами губы и неба и без данной патологии при острой пневмонии.

Материалы и методы. В настоящее исследование были включены 38 детей с установленным диагнозом острая пневмония (18 младенцев с ВРГН и 20 детей без ВРГН составил группу сравнения) и 16 практически здоровых ребенка составили контрольную группу. Следует отметить, что вся выборка была сформирована детьми раннего возраста.

Иммунологические исследования у обследуемых женщин и мужчин проводились в лаборатории иммунорегуляции Института иммунологии и геномики человека АН РУз.

Концентрацию интерферона-гамма (ИФН γ /IFN γ), интерлейкина – 4 (ИЛ-4/IL-4) и интерлейкина 17А (ИЛ-17А/IL-17А) в сыворотке периферической крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем АО «ВЕКТОР-БЕСТ» (Россия, Новосибирск). Количественную оценку результатов проводили методом построения калибровочной кривой, отражающей зависимость оптической плотности от концентрации для стандартного антигена и позволяющих сравнение с ним исследуемых образцов.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием компьютерной программы «Statistica 6.0».

Данные были статистически обработаны с использованием обычных подходов, результаты представлены как выборочное среднее (M) и стандартная ошибка среднего (m); медиана (Me), характеризующая центральную тенденцию, и верхний и нижний квартили, характеризующие разброс значений показателя у 50% респондентов (Q1—Q3), где Q1 — 25% перцентиль, Me – 50% процентиль, Q3 — 75% процентиль. Достоверность различий средних величин (P) сравниваемых показателей оценивали по критерию Стьюдента (t).

Результаты и их обсуждения. Как известно, организация иммунной системы подвергается возрастным изменениям. Критические периоды развития иммунологической реактивности (верстовые столбы) - представляют собой периоды, во время которых воздействие антигенов может вызывать непропорциональный или даже парадоксальный ответ иммунной системы. Этот ответ может быть либо недостаточным для эффективной защиты (гипо- или анергичным), либо чрезмерным (гиперэргичным). Выбранный контингент детей (от 3 до 12 месяцев) в настоящем исследовании соответствует второму критическому периоду становления иммунной системы.

Следует отметить, что цитокины играют важную роль в развитии воспалительных процессов, включая слизистую оболочку полости рта у детей с врожденной расщелиной губы и/или неба. Системное содержание цитокинов в значительной степени зависит от клинических проявлений данной врожденной патологии лица. Такие исследования имеют потенциал помочь в более глубоком понимании иммунологических аспектов и патогенеза данного врожденного состояния, в связи с чем, следующим этапом иммунологических исследований было изучение продукции медиаторов Th1-, Th2- и Th17- иммунного ответа у детей с ВРГН при ПН и у детей с ПН без врожденной патологии.

Полученные результаты имели разнонаправленные значения, которые отражены в табл.1.

В настоящее время рассматривают четыре типа адаптивного иммунного ответа, регулируемые разными популяциями Т-хелперов (Th), а именно Th1-, Th2-, Th17- и Т-регуляторными клетками (Treg) [5].

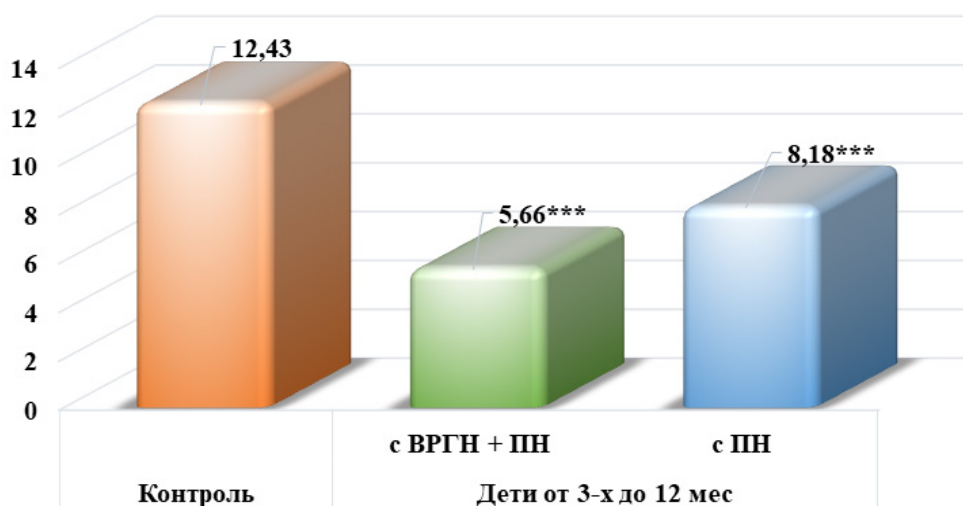
Таблица-1

Сывороточное содержание цитокинов в группах детей от 3-х до 12 месяцев

Показатель	M±m, пг/мл	Me [Q1; Q3]	Min, пг/мл	Max, пг/мл
Контрольная группа, n=16				
IFN γ	12,43±0,81	11,50 [9,77; 13,65]	9,11	19,10
IL – 17A	6,92±0,43	6,41 [5,57; 8,55]	4,60	9,21
IL – 4	4,15±0,27	4,12 [3,35; 5,15]	2,44	5,73
1-ая основная группа (дети с ВРГН+ПН), n=18				
IFN γ	5,66±0,48***	5,10 [3,93; 7,55]	3,20	9,14
IL – 17A	35,60±1,47***	35,05 [29,80; 40,82]	26,55	49,60
IL – 4	22,18±1,62***	22,10 [15,40; 29,61]	12,34	33,11
2-ая группа сравнения (дети с ПН), n=20				
IFN γ	8,18±0,41***	7,70 [7,02; 10,24]	4,71	10,90
IL – 17A	28,38±1,13***	27,75 [23,87; 31,75]	20,90	37,81
IL – 4	16,40±0,55***	16,10 [14,80; 18,72]	12,35	20,72

Примечание: * - достоверно по сравнению с данными контрольной группы (* - P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001). Me – медиана, Q1(процентиль) – 25%, Q3 (процентиль) – 75%.

Интерферон-гамма (ИФН- γ /IFN- γ) - единственный представитель семейства интерферонов, главный регуляторный цитокин Th1-клеток, обладающий противовирусной, противоопухолевой и иммуномодулирующей функцией. Производство IFN- γ в основном регулируется естественными киллерами (NK) и естественными киллерами Т (NKT) клетками врожденного иммунитета, в то время как CD8+ и CD4+ Т-клетки являются основными паракринными источниками IFN- γ во время адаптивного иммунного ответа [7]. Следовательно, он играет важную роль в координации как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа [11].



Примечание: * - достоверно по сравнению с данными контрольной группы (* - P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001).

Рисунок-1. Сывороточное содержание IFN- γ у обследованных детей до начала лечения.

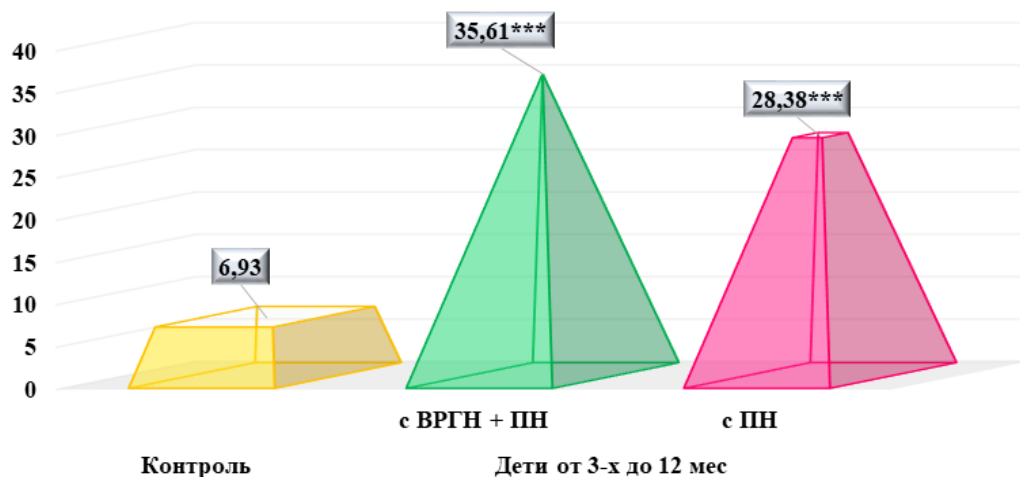
В воспалительной среде IFN- γ запускает активацию иммунного ответа и стимулирует элиминацию возбудителей; он также предотвращает чрезмерную активацию иммунной системы и повреждение тканей. Этот баланс поддерживается сложными механизмами, которые еще до конца не изучены [13, 10].

Согласно приведенным на рис.1., анализ сывороточного содержания IFN- γ установил значимые показатели у всех обследованных детей с ПН. Выявлено, что в группе младенцев с ВРГН при ПН синтез IFN- γ был достоверно снижен на 54%,

и в среднем составил $5,66 \pm 0,48$ пг/мл, с индивидуальным размахом от 3,20 до 9,14 пг/мл ($P < 0,001$), тогда как в группе младенцев без врожденной патологии при ПН уровень данного показателя составил в среднем $8,18 \pm 0,41$ пг/мл, с индивидуальным размахом от 4,71 до 10,90 пг/мл ($P < 0,001$) против контрольных значений детей, аналогичного возраста, которые в среднем составили $12,43 \pm 0,81$ пг/мл.

Как известно, система иммунитета в периоде новорожденности и в постнатальном периоде находится в состоянии физиологической супрессии. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что сниженный синтез IFN- γ у обследованных младенцев с ПН указывает на физиологический дефицит и определяет слабую противовирусную и антибактериальную защиту в первые месяцы/годы жизни и недостаточную активность клеток-продуцентов данного медиатора иммунного ответа. Выявленный глубокий дефицит в группе детей с ВРГН при ПН вероятно возник вследствие иммунокомпроментированности. Так, в исследуемой выборке детей, в силу их возраста и особенностей, преобладают комбинированные дефекты иммунной системы вторичного характера, в то время как у иммунокомпроментированных детей раннего возраста без врожденных пороков лица имеет место дефектность ответа противовирусных механизмов иммунной защиты – неадекватный иммунный ответ на инфекционные патогены в сочетании с различными нарушениями функционирования нейтрофильных гранулоцитов.

Интерлейкин-17 (ИЛ-17/IL-17) в основном продуцируется Т-хелперами 17 (Th17), уникальной субпопуляцией Т-хелперов, отличающейся от клеток Th1 и Th2, а также другие подмножества Т-клеток, такие как $\gamma\delta$ T и естественные Т-киллеры (NKT), производят IL-17 в ответ на врожденные стимулы. Семейство IL-17 состоит из шести членов (от IL-17A до IL-17F), которые участвуют в патогенезе многочисленных воспалительных заболеваний [9, 8, 6]. При этом, доминирующую роль в регуляции иммунитета выполняет IL-17A. Однако, увеличенная продукция IL-17A и 17F может привести к воспалению дыхательных путей и повышению гиперреактивности эпителия легких. IL-17 является одним из наиболее изученных цитокинов в иммунологии, по крайней мере частично, из-за его участия в воспалительной патологии [11].



Примечание: * - достоверно по сравнению с данными контрольной группы (* - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$).

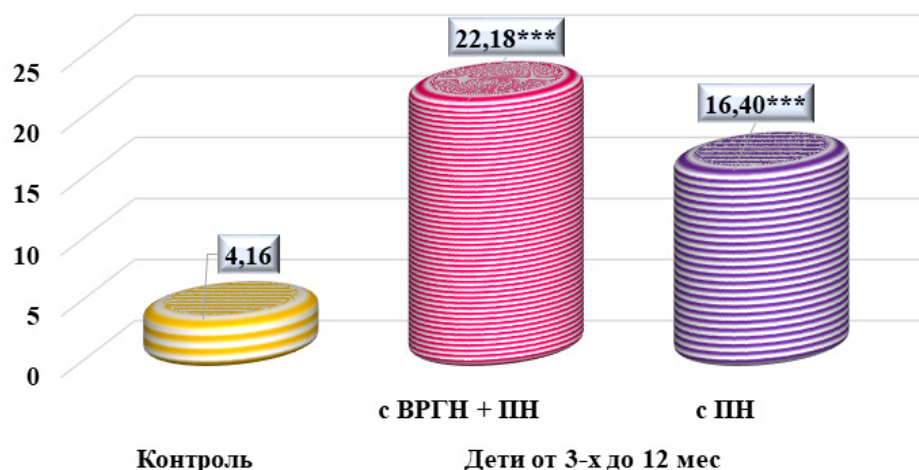
Рисунок-2. Сывороточный уровень IL-17A у обследованных детей до начала лечения.

Оценка сывороточной концентрации IL-17A, отображенная на рис.2. установила значимое повышение во всех группах детей с ПН. Так, уровень IL-17A в группе детей с ВРГН при ПН в более чем 5 раз, что в среднем составил $35,60 \pm 1,47$ пг/мл ($P < 0,001$), с индивидуальным размахом от 26,55 до 49,60 пг/мл, в то время как в группе детей с ПН без врожденной патологии данный показатель превышал нормативные в 4 раза со средним значением $28,38 \pm 1,13$ пг/мл ($P < 0,001$), с диапазоном от 20,90 до 37,81 пг/мл против контроля $6,92 \pm 0,43$ пг/мл.

Согласно механизмам действия, полученные результаты указывают на то, что повышенное содержание IL-17A у младенцев при ПН может быть обусловлено детской иммунологической особенностью, при которой иммунная система у младенцев

может реагировать более активно на инфекции, что может отражаться в увеличенных уровнях цитокинов, включая IL-17A, при чем уровень этого цитокина коррелирует со степенью тяжести пневмонии, а у иммунокомпроментированных детей с ВРГН наблюдается гиперреакция на фоне врожденной патологии. Высокая сывороточная концентрация может быть вызвана различными факторами, такими, как активация клеток-продуцентов IL-17A в ответ на бактериальные инфекции; также при ПН, особенно если она сопровождается выраженным воспалением в легких, может стимулировать высокую продукцию IL-17A; так, как IL-17A выполняет роль стимулятора в активации и миграции иммунных клеток к месту инфекции, повышенные уровни могут свидетельствовать о нарастающей иммунной реакции на возбудителя пневмонии, а это свидетельствует об иммунной реакции организма на инфекцию в дыхательных путях. Все перечисленные факторы указывают о попытках детского организма бороться с возбудителем пневмонии и активировать защитные механизмы.

Интерлейкин 4 (ИЛ-4/IL-4) - представляет собой цитокин с плеiotропными, противовоспалительными функциями. IL-4 играет ключевую роль в развитии ответов Th2-типа (гуморальный иммунный ответ), способствует росту и активации В-лимфоцитов, которые продуцируют антитела классов IgG1 и IgE, и увеличивает индукцию МНС класса II. Основное действие IL-4 — активация пролиферации В-лимфоцитов, с созреванием в плазматические клетки, которые начинают синтез специфических антител. Он препятствует дифференцировке Th1-клеток и продукции ими характерных цитокинов. IL-4 подавляет провоспалительную активность макрофагов и секрецию ими IL-1, TNF и IL-6, то есть оказывает противовоспалительный эффект [6].



Примечание: * - достоверно по сравнению с данными контрольной группы (* - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$).

Рисунок-3. Сывороточный уровень IL-4 у обследованных детей до начала лечения.

Анализ сывороточной концентрации IL-4 у детей с ПН во всех группах выявил достоверное повышение. Согласно приведенным данным на рис.3., установлено, что в группе детей с ВРГН уровень изученного противовоспалительного цитокина был выше нормативных значений более чем в 5 раз, что в среднем составил $22,18 \pm 1,62$ пг/мл ($P < 0,001$), с индивидуальным размахом от 12,34 до 33,11 пг/мл, в группе детей без врожденной патологии лица с ПН данный показатель был повышен в 3,9 раза, со средним значением $16,40 \pm 0,55$ пг/мл ($P < 0,001$), с индивидуальным размахом от 12,35 до 20,75 пг/мл против показателей контроля у здоровых младенцев $4,15 \pm 0,27$ пг/мл.

Полученные результаты позволяют нам предположить, что возможно, повышенные значения IL-4 у детей с ВРГН при ПН аномалии, связанные с врожденной аномалией лица, могут создавать особенности в анатомии и физиологии дыхательной системы, что может повысить уязвимость к инфекциям и воспалительным процессам. Следует учитывать иммунологические аспекты ВРГН, ведь дети с данной врожденной патологией, могут иметь особенности в иммунной системе, которые могут влиять на регуляцию цитокинов, включая IL-4. Само наличие врожденного дефекта может вызвать изменения в иммунном ответе организма. Также, дети с ВРГН могут иметь повышенную частоту инфекций верхних дыхательных путей, включая пневмонии. Повышенное содержание IL-4 может быть связано с активацией иммун-

ной системы в ответ на инфекции. А в группе у детей с ПН без врожденных аномалий, повышенное содержание противовоспалительного цитокина связано с различными факторами, свойственными иммунному ответу на инфекцию, во-первых, если пневмония вызвана вирусом, то иммунная реакция включает активацию Th2-иммунитета, который, в свою очередь, стимулирует продукцию IL-4, что помогает усилить иммунный ответ против вирусов; во-вторых, некоторые виды пневмонии могут быть связаны с аллергическими реакциями, особенно у детей, предрасположенных к аллергиям, а IL-4 является ключевым цитокином в аллергических процессах; в-третьих, у детей раннего возраста иммунная система находится в стадии формирования, а выявленные повышенные уровни IL-4 могут отражать нормальные процессы настройки и развития иммунной системы; в-четвертых, редких случаях, пневмония может быть связана с аутоиммунными процессами, что также может повлиять на уровень IL-4.

Таким образом, исходя из полученных данных было установлено, что группах детей с ПН как с ВРГН, так и без врожденной патологии имело место существенное возрастание содержания в периферической крови IL-17A, IL-4 и дефицит IFN- γ у детей первого года жизни, что свидетельствует о дисбалансе в иммунном ответе, который может повлиять на течение и тяжесть инфекции. Установлено, что у детей в данной выборке наблюдается дисрегуляция воспаления, указывающая на активацию Th17- и Th2-типов иммунитета соответственно, недостаток антивирусной защиты, дисфункциональный характер иммунного ответа, особенности иммунной системы у младенцев.

LIST OF REFERENCES

- [1] Musaxodjayeva D.A., Inoyatov A.Sh., Sharopov S.G. Analysis of modern views on risk factors for development of congenital defects of the chelyustical and facial region. *News in Medicine*, (Tashkent) 2019;
- [2] Nesterova I.V., Kovaleva S.V., Chudilova G.A., Malinovskaya V.V. Interferon and immunotherapy in rehabilitation of immunocompromised children with recurrent respiratory infections. In the book: *Immunoterapiya v praktike ENT-vracha i terapevta*. A.S. Simbirsev, G.V. Lavrenova (eds.). Sankt-Peterburg: Dialog. 2018: 167–89.
- [3] Karimjonov I.A., Madraximov P.M. Characteristics of immunological disorders in acute pneumonia and frequently sick children. // *Re-health journal-2021/-1(9)*.-126-129.
- [4] Shkarin V.V., Sergeeva A.V. Epidemiological and clinical features of chronic respiratory infections in children. *Children's infections*. 2017; 1:
- [5] Afzali B., Lombardi G., Lecher R.I., Lord G.M. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *J. Clinical and Experimental Immunology*, 2017, Vol. 148, pp. 32-46
- [6] Bulat-Kardum LJ, Etokebe GE, Lederer P, Balen S, Dembic Z. Genetic polymorphisms in the toll-like receptor 10, interleukin (IL) 17A and IL17F genes differently affect the risk for tuberculosis in the Croatian population. *Scand J Immunol* 2017; 82:63–69
- [7] Burke JD, Young HA. IFN- γ : a cytokine at the right time, is in the right place. *Semin Immunol*. 2019; 43:1–8
- [8] Cătană CS, Neagoe IB, Cozma V, Magdaş C, Tăbăran F, Dumitraşcu DL. Contribution of the IL-17/IL-23 axis to the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2018; 21:5823–5830
- [9] Goepfert, A., Lehmann, S., Blank, J., Kolbinger, F. & Rondeau, J. M. Structural analysis reveals that the cytokine IL-17F forms a homodimeric complex with receptor IL-17RC to drive IL-17RA-independent signaling. *Immunity* 52, 499–512.e5 (2020)
- [10] SC Wilson, NA Caveney, M Yen, C Pollmann, X Xiang. Organizing structural principles of the IL-17 ligand–receptor axis. *Nature* 2022:556–567.
- [11] Ivashkiv LB. IFN γ : signaling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2018;18(9):545–58
- [12] Mendoza JL, Escalante NK, Jude KM, Bellon JS, Su L, Horton TM, et al. Structure of the IFN γ receptor complex guides design of biased agonists. *Nature*. 2019; 567:56–60.
- [13] Zwicky, P., Unger, S. & Becher, B. Targeting interleukin-17 in chronic inflammatory disease: a clinical perspective. *J. Exp. Med.* 217, 1–16 (2020).
- [14] Gunjan Kak, Mohsin Raza, Brijendra K Tiwari. Interferon-gamma (IFN- γ): Exploring its implications in infectious diseases. *BioMol Concepts* 2018; 9: 64–79.