

ІНТЕГРОВАНІЙ АНАЛІЗ ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ В ДІТЕЙ ДОШКІЛЬНОГО ВІКУ З ПОВТОРНИМИ РЕСПІРАТОРНИМИ ІНФЕКЦІЯМИ

^{1,2} Волошин О. М. <https://orcid.org/0000-0001-7612-6521>

¹ Марушко Ю. В. <https://orcid.org/0000-0001-8066-9369>

² Савченко І. І. <https://orcid.org/0000-0003-0820-2152>

¹ Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна

² Луганський державний медичний університет, Рівне, Україна

ditlikar@ukr.net

Актуальність. Рекурентні респіраторні інфекції є вельми актуальною проблемою повсякденної педіатричної практики. Найчастіше вони діагностуються серед дітей дошкільного віку з досить значним варіюванням їх поширеності (6-30%) за даними різних дослідників. Транзиторна незрілість імунної системи вважається однією з причин частих епізодів гострих респіраторних інфекцій (ГРІ).

Ціль: Визначити стан взаємозалежності між окремими показниками комплексного імунологічного дослідження крові й частотою епізодів ГРІ в дітей дошкільного віку.

Матеріали та методи. Обстежено 26 дітей (11 хлопчиків і 15 дівчаток) віком 1-4 роки, які перебували на госпітальному лікуванні з приводу ГРІ. У них враховано кількість епізодів ГРІ за попередній рік життя. Додатково розраховано два інтегральні показники рекурентності ГРІ, а саме: інфекційний індекс та індекс резистентності. Крім того, у дітей проведено клінічний аналіз крові, досліджено окремі показники гуморального й клітинного імунітету, функціональної активності імунних клітин (фагоцитарна активність нейтрофілів (ФА), реакція бласттрансформації лімфоцитів), системи комплементу (СЗс, С4) і різні класи циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Статистичну обробку цифрових даних здійснено за допомогою ліцензійного програмного забезпечення «IBM SPSS Statistics 28» з розрахунком довірчого інтервалу (ДІ) для основних показників.

Результати. У переважної більшості обстежених дітей (80,8%) зафіксовано підвищений вміст сироваткових ЦІК(дрібні). Між значеннями індексу резистентності і вмістом ЦІК(дрібні) продемонстровано наявність помірної позитивної кореляції [$\rho=0,392$; $p=0,048$; ДІ: 0,072–0,644]. Найтіснішу взаємозалежність виявлено в наступних парах вивчених показників: 1) ЦІК(середні)*ЦІК(дрібні) [$\rho=0,732$; $p<0,001$; ДІ: 0,471–0,875]; 2) СЗс*С4 [$\rho=0,658$; $p<0,001$; ДІ: 0,352–0,837]; 3) ЦІК(великі)*Ig(A+M+G) [$\rho=0,643$; $p<0,001$; ДІ: 0,330–0,829]; 4) ФА(спонтанна)*ФА(індукована) [$\rho=0,601$; $p=0,001$; ДІ: 0,267–0,806]. Шляхом лінійного регресійного аналізу зареєстровано залежність прогнозованого індексу резистентності лише від одного з врахованих імунологічних параметрів крові, а саме від загального лейкоцитарного антигену. Вплив цього антигену на залежний показник склав 18,4% серед інших можливих факторів.

Висновки. Окремі показники комплексного імунологічного дослідження крові перебувають у значущій взаємозалежності. Отримані результати доцільно врахувати при розробці інтегрованої моделі прогнозування ймовірності повторних епізодів ГРІ в дітей дошкільного віку.

Ключові слова: діти дошкільного віку, рекурентні респіраторні інфекції, імунологічні показники крові, комплексний аналіз.

Актуальність. Рекурентні респіраторні інфекції (РРІ) вважаються однією з найбільш нагальних проблем у повсякденній лікарській практиці насамперед педіатрів, сімейних лікарів, дитячих імунологів та інфекціоністів. Вони діагностуються серед дітей дошкільного віку з досить широким діапазоном варіювання їх частоти – від 6% до 30% [1-6]. РРІ найчасті-

ше визначаються як клінічні випадки, коли дитина віком до 3 років має в анамнезі 8 і більше документованих епізодів гострої респіраторної інфекції (ГРІ) на рік, а після 3 років – 6 і більше таких епізодів. Водночас варто підкреслити, що в неї мають бути відсутніми патологічні стани, найперше це первинні імунодефіцити, муковісцидоз, вроджені вади розвитку

дихальної системи, що зазвичай самі виявляються повторними інфекціями респіраторних шляхів [1,2,4].

Натепер опубліковано результати численних клінічних досліджень й аналітичні узагальнюючі матеріали, в яких автори зосереджують свою увагу на визначенні вагомих причин схильності деяких дітей до рекурентного перебігу епізодів ГРІ. Зокрема, досить часто РРІ в дитячому віці пов'язуються з такими спонукальними чинниками, як малий діаметр дихальних шляхів, недостатньо ефективний кашльовий рефлекс, дефіцит вітамінів і біоелементів, обтяжена спадковість щодо РРІ, незрілість імунної системи [4,7-10]. Відомо, що вроджена імунна реактивність дитячого віку відрізняється від тієї, яка зазвичай притаманна дорослим людям, включно з відмінністю в розпізнаванні інфекційних збудників і слабкішою інтерфероновою відповіддю. До того ж у дітей перших років життя відсутня імунологічна пам'ять щодо різноманітних патогенних факторів [11]. Розглядається також імовірність транзиторної недостатньої ефективності Т-лімфоцитів (Т(Lym)), В-лімфоцитів (В(Lym)), натуральних кілерів (NK), системи комплементу й фагоцитозу [12]. Заслугує особливої уваги стаття F. Cardinale et al. із ґрунтовним аналізом найімовірніших факторів ризику РРІ в дітей дошкільного віку. За інформацією, що представлена авторами, такими факторами є наступні: 1) численні соціальні чинники; 2) генетично зумовлена схильність до частих епізодів ГРІ; 3) дефіцит облігатних мікронутрієнтів; 4) алергічні захворювання, 5) порушення балансу мікробіоти й мукозальних імунних механізмів у дихальних шляхах; 6) ураження збудниками атипових бактеріальних інфекцій, 7) токсичні впливи під час внутрішньоутробного розвитку, 8) дія різноманітних несприятливих факторів зовнішнього середовища після народження; 9) надлишкова маса тіла/ожиріння; 10) нераціональне призначення антибактеріальних, нестероїдних і гормональних протизапальних засобів тощо. Вони також повідомляють про існування гіпотези, відповідно до якої в дітей із РРІ має місце тимчасова імуносупресія, яка зумовлюється вірус-

ною інфекцією і яка може сприяти виникненню наступних епізодів ГРІ, що призводить до утворення «вадливого кола». Проте дотепер ця гіпотеза ще не отримала аргументованих підтверджень [5].

Окремі аспекти нашого дослідження гуморального й клітинного імунітету в дітей дошкільного віку вже були відображені у двох публікаціях [13,14]. Оскільки проведене комплексне імунологічне дослідження крові містило ще й показники, що відображають функціональну активність деяких імунних клітин, а також вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) й основних компонентів системи комплементу, постало завдання щодо поєднаного аналізу всіх отриманих результатів.

Ціль: Визначити стан взаємозалежності між окремими показниками комплексного імунологічного дослідження крові й частотою епізодів ГРІ в дітей дошкільного віку.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обсерваційне дослідження здійснено в дитячих соматичних відділеннях багатопрофільних міських лікарень м. Рубіжне і м. Северодонецьк Луганської області (Україна) у 2020 році. У його межах проведено обстеження 26 дітей (11 хлопчиків і 15 дівчаток) віком 1-4 роки, госпіталізованих із приводу наявності в них ГРІ. За даними анамнезу в пацієнтів зареєстровано від 1 до 10 епізодів ГРІ протягом попереднього року, включно з поточним захворюванням. Розподілення клінічних форм гострого інфекційного ураження респіраторного тракту серед обстежених дітей виявилось наступним: 1) ринофарингіт – 2 (7,69%); 2) ларинготрахеїт – 1 (3,85%); 3) бронхіт – 10 (38,46%); 4) обструктивний бронхіт – 6 (23,08%); 5) позалікарняна пневмонія – 7 (26,92%).

Були використані такі критерії залучення дітей до групи спостереження: 1) вік – від 1 року до 4 років 11 місяців 29 діб; 2) стать – хлопчики й дівчатка; 3) діагностований епізод ГРІ з ураженням верхніх або нижніх дихальних шляхів; 4) відсутність будь-якого хронічного захворювання; 5) наявність добровільної інформованої згоди батьків щодо проведення

наукових досліджень у дитини, а також щодо збору й обробки персональних відомостей пацієнта. Водночас у разі виникнення будь-яких ускладнень під час проведення терапевтичних заходів або самовільного припинення батьками лікування дитини до закінчення запланованого обстеження цю дитину вилучали з групи спостереження. Слід зауважити, що дизайном дослідження не було передбачено формування групи контролю, оскільки діти в групі спостереження мали суттєве диференціювання за частотою епізодів ГРІ.

На підставі даних анамнезу в кожній дитині розраховано два інтегральні клінічні показники: 1) модифікований інфекційний індекс у вигляді співвідношення кількості епізодів ГРІ за попередній рік до віку дитини (міс.); 2) індекс резистентності (ІнР), що відображає середню кількість епізодів ГРІ за 1 міс. протягом попереднього року життя дитини.

Дослідження сироваткових імуноглобулінів (Ig) класів А, М, G та Е, а також показників клітинного імунітету крові виконано в клініко-діагностичній лабораторії ТОВ «Сінево Україна».

Паралельно із забором крові для імунологічних тестів, тобто одного й того ж дня, проведено клінічний аналіз венозної крові для подальшого розрахунку абсолютних значень показників клітинного імунітету. Цей аналіз здійснено на автоматичному гематологічному аналізаторі «MicroCC-20 Plus» (США) в лабораторії «Мікротестлаб» (м. Северодонецьк, Україна). Загалом розраховані наступні показники клітинного імунітету крові: лейкоцити (WBC), лімфоцити (Lym), гранулоцити (GRAN), Т-лімфоцити (T(Lym), CD3+CD19-), лейкоцитарно-Т-лімфоцитарний індекс (ЛТЛІ) як співвідношення між абсолютними значеннями WBC і T(Lym), Т-хелпери/індуктори (Th, CD3+CD4+), Т-цитотоксичні Lym (Tct, CD3+CD8+), імунорегуляторний індекс як співвідношення між Th і Tct (ІРІ, CD4+CD8-/CD8+CD4-), T(NK) – клітини що мають природну кілерну активність й ознаки Т-лімфоцитів (CD3+CD56+), NK або натуральні кілери – клітини, що виявляють природні неіммунні цитотоксичні властивості (CD3-CD56+), В-лімфоцити (B(Lym), CD3-CD19+), моноцити/макрофаги

(MM; CD14+) і загальний лейкоцитарний антиген (ЗЛА; CD45+). Параметри клітинного імунітету вивчено на проточному цитометрі «COULTER EPICS XL-MCL™ Flow Cytometer/FS-500» (США) із застосуванням відповідних наборів «Beckman Coulter» (США).

Аналіз Ig здійснено на модульній платформі «Cobas® 8000» (Німеччина) із застосуванням імунотурбідиметричного (IgA, IgM, IgG) й імуноферментного (IgE) методів та наборів «Roche Diagnostics» (Швейцарія). Крім того, було розраховано показник сумарних Ig – Ig(A+M+G) і їхні інтегральні показники, а саме: IgA/(IgM+IgG), IgM/(IgA+IgG) та IgG/(IgA+IgM).

Разом з тим проведено дослідження ще низки показників імунного статусу. Зокрема, два види фагоцитарної активності (ФА) нейтрофілів (Nф) – спонтанну (ФАС) та індуковану (ФАі) – визначено за стандартною ручною цитоморфологічною методикою із застосуванням нітросинього тетразолію (НСТ-тест). Індекс стимуляції Nф розраховано як відношення ФАі/ФАС, а резерв фагоцитозу Nф – як різницю між ФАі та ФАС [15]. Проліферативну активність Lym з'ясовано за стандартною реакцією їх бласттрансформації (РБТЛ) з конканаваліном А, застосовуючи колориметрію (ручна методика). Визначення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) – великих (ЦІКв), середніх (ЦІКс) і дрібних (ЦІКд) – у сироватці крові виконано шляхом їх преципітації з поліетиленгліколем (ручна методика). Концентрація С3с і С4 компонентів комплементу в сироватці крові вивчена з використанням імунотурбідиметричного методу (аналізатор – Cobas 6000; тест система – Roche Diagnostics; Швейцарія).

Дослідження виконано згідно з принципами Гельсінської декларації (2013) про дотримання етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини. Протокол дослідження погоджено комісіями з біоетики Національного медичного університету імені О.О. Богомольця й Державного закладу «Луганський державний медичний університет».

Статистичний аналіз отриманих цифрових даних здійснено з використанням ліцензійної

програми «IBM SPSS Statistics 28» на платформі «PS IMAGO PRO 8.0» (США) від компанії «Predictive Solutions» (Україна). Перевірку на відповідність нормальному закону розподілення значень усіх досліджених інтервальних показників у варіаційних рядах проведено шляхом визначення критерію Шапіро-Уїлка. Для опису вивчених варіаційних рядів використано такі непараметричні характеристики, як медіана (Me) або Q2 (50%) кuartиль, Q1 (25%) і Q3 (75%) кuartилі, відносний показник кuartильної варіації (Vq), мінімальне (Xmin) та максимальне (Xmax) значення показника. Стан парного взаємозв'язку між інтервальними показниками з'ясовано шляхом визначення коефіцієнтів рангової кореляції Спірмена (ρ). До того ж для них враховано 95% довірчі інтервали (ДІ). При здійсненні кореляційного аналізу також задіяно програмний модуль бутстрепінгу (без застосування команди «SET MXCELLS»). Було використано простий метод вибірки з однаковою кількістю (1000) ресемплінг-вибірок щодо всіх вивчених показників імунного статусу дітей. Для визначення 95% ДІ в межах здійснення бутстрепінгу обране зміщення корегування з підсиленням – Bias-correlated and accelerated. Бутстрепінг було використано, зокрема, для перевірки вірогідності отриманих результатів через обмежену кількість обстежених дітей [16]. Якісну оцінку сили кореляційного зв'язку здійснено за шкалою Чеддока. Лінійну регресію застосовано для визначення залежності врахованих інтегральних індексів рекурентного перебігу ГРІ від врахованих імунологічних показників крові.

Усі отримані результати прийнято статистично вірогідними за їхньої асимптотичної значущості, яка виявилась меншою за 0,05 ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Раніше нами вже були представлені відомості щодо досліджених параметрів гуморального й клітинного імунітету в означеній групі дітей [16]. Тому далі наведено описові статистики лише стосовно решти показників (табл. 1), що містяться у висновку комплексного імун

нологічного дослідження крові. Кwartильну варіацію, що не перевищувала 10%, мали такі показники, як ЦІКд (4,71%), ФАс (6,25%) і ФАі/ФАс (9,57%). Водночас найвищою вона виявилася для ЦІКв (37,50%), С4 (29,55%) і ФАі-ФАс (24,58%), а решта врахованих параметрів мала проміжні значення Vq. Варто додати, що кuartильна варіація для інфекційного індексу та ІпР становила відповідно 47,29% та 37,54%. Це є підтвердження значущої диференціації обстежених дітей за частотою епізодів ГРІ протягом попереднього року їхнього життя.

З'ясовано, що кілька врахованих показників – ФАс, ФАі, ФАі/ФАс і ЦІКв – у всіх пацієнтів перебували в межах їхніх референтних значень. Перевищення таких значень у більшості пацієнтів зафіксовано для ЦІКд (80,8%). Решта досліджених параметрів – РБТЛ, ЦІКс, СЗс і С4 – також переважно мали нормальні значення, хоча їх перевищення доволі часто зареєстроване для ЦІКс (30,8%).

Як відомо, фагоцитоз, який здійснюється різноманітними клітинами, є фундаментальним біологічним процесом у забезпеченні ефективних імунних функцій і гомеостазу тканин [17]. Фагоцитарна активність N_{ϕ} зазвичай підвищується на початку розвитку запального процесу, а її зниження веде до хронізації запального процесу й маніфестації аутоімунного процесу, оскільки при цьому порушується функція руйнування й виведення імунних комплексів з організму. Згідно з даними, наведеними О.В. Тимошиною і співавт., у дітей віком 2-5 років на тлі РРІ виявлено нижчі значення індексу завершеності фагоцитозу, фагоцитарного числа, фагоцитарного індексу, стимульованого стафілококом НСТ-тесту в поєднанні з вищими значеннями спонтанного НСТ-тесту [18].

Натепер різні модифікації РБТЛ найчастіше застосовується для обстеження пацієнтів з імунологічними, ревматологічними, алергологічними захворюваннями й туберкульозом. Зокрема, це дослідження є вельми поширеним у діагностуванні підвищеної чутливості пацієнтів до лікарських засобів [19,20].

ЦІК – це поєднання з антигену й антитіла, а також пов'язаних із ними компонентів компле-

Таблиця 1

Описові статистики окремих показників комплексного імунологічного дослідження крові в обстежених дітей, (n=26)

Показник	Me	Q1; Q3	Vq,%	Xmin	Xmax	n↓N	nN	n↑N
ФАс, о.о.	98,0	93,50; 105,75	6,25	90	119	0	26	0
ФАі, о.о.	191,0	171,75; 222,00	13,15	154	288	0	26	0
ФАі-ФАс, о.о.	88,50	75,75; 119,25	24,58	60	180	-	-*	-
ФАі/ФАс, у.о.	1,88	1,80; 2,16	9,57	1,59	2,67	0	26	0
РБТЛ, о.о.	1,55	1,30; 1,67	11,94	1,12	1,86	2	20	4
ЦІКв, о.о.	7,0	6,00; 11,25	37,50	4	17	0	26	0
ЦІКс, о.о.	83,0	75,50; 93,00	10,54	64	105	0	18	8
ЦІКд, о.о.	170,0	162,00; 178,00	4,71	144	187	0	5	21
СЗс, г/л	1,16	0,93; 1,31	16,38	0,76	1,67	3	23	0
С4, г/л	0,22	0,17; 0,30	29,55	0,09	1,21	1	23	2

Примітки.

↓nN – кількість дітей зі значеннями показника, нижчими за референтні;

nN – кількість дітей із референтними значеннями показника;

↑nN – кількість дітей зі значеннями показника, вищими за референтні;

* – відсутні референтні значення;

о.о. – оптична одиниця;

у.о. – умовна одиниця.

менту (СЗ, С4, С1q). Підвищення їх вмісту в сироватці крові спостерігається при аутоімунних захворюваннях, алергічних реакціях III типу, гострих інфекційних захворюваннях різної етіології тощо [21]. Розмір імунних комплексів значною мірою впливає на активність імунопатологічного процесу. Вважається загальноприйнятним, що середні й дрібні комплекси мають більш виражені патогенні властивості.

Система комплементу задіяна в реалізації багатьох дуже важливих біологічних процесів, наприклад, імуномодуляції, внутрішньоклітинній сигналізації, запальних й аутоімунних механізмів тощо [22,23]. Центральне місце в цій системі займають СЗ і С4 компоненти. Компонент СЗ виступає ключовою ланкою системи комплементу, якою поєднується класичний та альтернативний шляхи її активації. Одним із численних продуктів розщеплення компоненту СЗ є СЗс. Компонент С4 підтримує фагоцитоз, підвищує проникність стінки судин, бере участь у нейтралізації вірусів. Підвищення концентрації компонентів СЗ і С4

крові відзначається, зокрема, при гострих інфекційних захворюваннях з різними етіологічними факторами.

У табл. 2 представлено статистично значущі результати рангового кореляційного аналізу – класичного та із застосуванням бутстрепінгу – між інтегральними індексами рекурентного перебігу ГРІ й показниками, що містяться в табл.1, а також між останніми, з одного боку, і рештою досліджених параметрів гуморального й клітинного імунітету [16].

Як, видно, кореляційні пари найчастіше містили такі показники, як СЗс, різні класи ЦІК та Іg. Продемонстровано найтіснішу пряму взаємозалежність у наступних поєднаннях: 1) ЦІКс*ЦІКд [$\rho=0,732$; $p<0,001$; ДІ: 0,471–0,875]; 2) СЗс*С4 [$\rho=0,658$; $p<0,001$; ДІ: 0,352–0,837]; 3) ЦІКв*Іg(A+M+G) [$\rho=0,643$; $p<0,001$; ДІ: 0,330–0,829]; 4) ФАс*ФАі [$\rho=0,601$; $p=0,001$; ДІ: 0,267–0,806]. Крім того, виражений позитивний зв'язок зафіксовано для таких парних комбінацій, як ЦІКв*ІgМ, СЗс*ЦІКс, С4*ІgЕ і ЦІКв*ІgG. Щодо показників клітинного іму-

Таблиця 2

Результати рангового кореляційного аналізу між дослідженими показниками в обстежених дітей

Кореляційна пара, n=26	ρ -Спірмена	p (ρ)	Межа 95% ДІ (ρ), класична		Межа 95% ДІ (ρ), бутстрепінг	
			верхня	нижня	верхня	нижня
ІнР*ЦІКд	0,392	0,048	-0,007	0,683	0,072	0,644
СЗс*С4	0,658	<0,001	0,352	0,837	0,421	0,816
СЗс*ЦІКс	0,546	0,004	0,189	0,775	0,220	0,776
СЗс*ЦІКд	0,472	0,015	0,092	0,732	0,098	0,730
СЗс*WBC	0,455	0,019	0,071	0,722	0,024	0,766
СЗс*NK	0,460	0,018	0,076	0,725	0,135	0,693
С4-2*ЦІКс	0,489	0,011	0,114	0,742	0,037	0,837
С4-2*IgE	0,543	0,004	0,186	0,774	0,241	0,787
ФАс*ФАі	0,601	0,001	0,267	0,806	0,164	0,860
РБТЛ*ЗЛА	-0,626	<0,001	-0,820	-0,305	-0,794	-0,252
ЦІКв*ЦІКс	0,496	0,010	0,123	0,746	0,121	0,762
ЦІКв*ЦІКд	0,445	0,023	0,058	0,716	0,033	0,741
ЦІКв*IgA	0,406	0,040	0,010	0,692	0,026	0,701
ЦІКв*IgM	0,591	0,001	0,253	0,801	0,325	0,777
ЦІКв*IgG	0,541	0,004	0,183	0,772	0,129	0,848
ЦІКв*Ig(A+M+G)	0,643	<0,001	0,330	0,829	0,287	0,895
ЦІКс*ЦІКд	0,732	<0,001	0,471	0,875	0,486	0,879
ЦІКс*WBC	0,396	0,045	-0,002	0,686	0,107	0,625
ЦІКс*GRAN	0,387	0,051	-0,012	0,680	0,069	0,643
ЦІКс*IgA	0,397	0,045	-0,001	0,686	0,029	0,694
ЦІКс*IgE	0,415	0,035	0,020	0,697	0,048	0,698
ЦІКд*IgA	0,417	0,034	0,024	0,699	-0,010	0,700

нітету, то тільки для NK зареєстровано пряму помірну взаємозалежність із С4 [$\rho=0,460$; $p=0,018$; ДІ: 0,076–0,725]. Негативну значущу кореляцію виявлено лише між РБТЛ і ЗЛА [$\rho=-0,626$; $p<0,001$; ДІ: (-0,820)–(-0,806)].

Застосування бутстрепінгу надало можливість перевірки вірогідності отриманих результатів насамперед у тих випадках, коли асимптотична значущість позитивних коефіцієнтів кореляції, визначених за класичним алгоритмом, була близькою до її прийнятого порогового рівня (0,05) і/або нижня межа їхнього ДІ мала від'ємне значення. Зокрема, за допомогою бутстрепінгу підтверджено наявність прямої помірної взаємозалежності в декількох парних комбінаціях, а саме ЦІКс*IgA, ЦІКс*WBC, ІнР*ЦІКд і ЦІКс*GRAN, хоча класичний спосіб

розрахунку ДІ для коефіцієнтів кореляції в зазначених парах викликав сумніви щодо їхньої вірогідності. Водночас наявність прямої помірної взаємозалежності між ЦІКд та IgA, що продемонстровано шляхом класичного визначення ρ -Спірмена і його ДІ, було спростовано результатом бутстрепінгу, із застосуванням якого ДІ перетнув нульове значення.

Встановлено, що сироватковий вміст ЦІКд мав пряму й помірної сили кореляцію з одним із двох розрахованих інтегральних показників рекурентності епізодів ГРІ, а саме ІнР (рис.1). Втім, цей зв'язок не надає достатніх підстав, аби стверджувати про поєднання частіших епізодів ГРІ з вищими фоновими або початковими значеннями сироваткових ЦІКд. У цьому разі не можна виключити й того, що підвищення вміс-

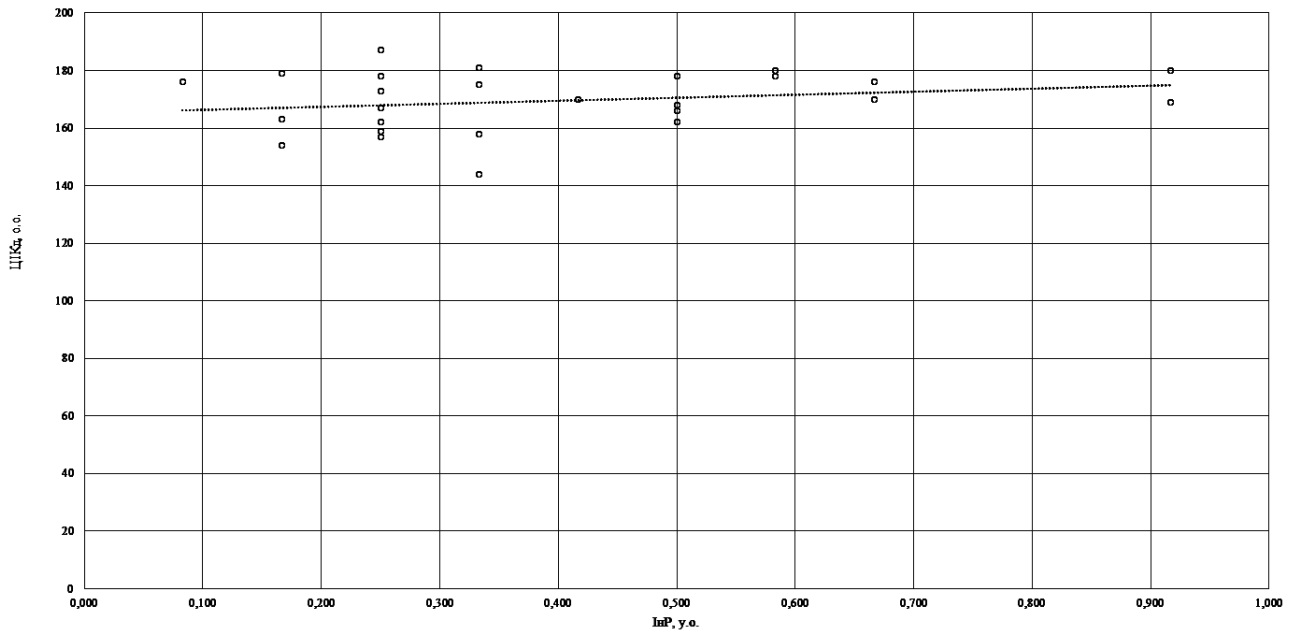


Рис. 1. Стан кореляції між lnP і кількістю ЦІКд у сироватці крові обстежених дітей

ту ЦІКд зумовлене насамперед гострим запальним процесом у респіраторній системі, а не частішими епізодами ГРІ протягом попереднього року життя обстежених дітей. Для остаточного з'ясування цього питання було б доцільним проведення лонгітудинального дослідження, яке дозволить порівняти стан взаємозв'язку між цими показниками на тлі епізодів ГРІ й поза ними. Аналогічний порівняльний аналіз також може бути застосований і до решти вивчених показників імунного статусу.

Шляхом лінійного регресійного аналізу із застосуванням покрокового (stepwise) включення незалежних факторів здійснено спробу визначення тих із них, що мають значущий вплив на 2 враховані індекси рекурентності ГРІ. У дітей проаналізовано 30 потенційних предикторів із комплексного імунологічного дослідження крові та їх похідними: WBC, Lym, GRAN, T(Lym), ЛТЛІ, Th, Tct, Th/Tct, T(NK), NK, B(Lym), MM, ЗЛА, IgA, IgM, IgG, IgE, Ig(A+M+G), IgA/(IgM+IgG), IgM/(IgA+IgG), IgG/(IgA+IgM), ФАс, ФАі, ФАі/ФАс, РБТЛ, ЦІКв, ЦІКс, ЦІКд, СЗс, С4. Продемонстровано, що лише при використанні lnP у якості залежної змінної було отримано прогностичну модель за наявності єдиного незалежного показника – ЗЛА. У табл. 3 відобра-

жені значення основних параметрів здійсненого регресійного аналізу.

Відповідно до отриманих результатів складено математичний алгоритм розрахунку прогнозованих значень lnP (формула 1).

$$\ln P(p) = -24,72^* + 0,253^{**} \times A \quad (1),$$

де $\ln P(p)$ – прогнозоване значення lnP;

* – константа B;

** – коефіцієнт b;

A – ЗЛА.

Як впливає з наведеної формули, прогнозовані значення lnP мають збільшуватися зі збільшенням значень ЗЛА. Примітно, що при цьому коефіцієнт детермінації (R^2) виявився не досить високим, а саме 0,184. Отже, в обстежених дітей частка впливу значень ЗЛА крові на lnP серед інших можливих предикторів становить відповідно лише 18,4%. Проте, зважаючи на сучасні відомості літератури щодо вельми широкого різноманіття факторів ризику РРІ [10,24,25], отримані результати лінійного регресійного аналізу варто взяти до уваги під час розробки остаточної комплексної моделі прогнозування ймовірності повторних епізодів ГРІ в дітей дошкільного віку.

Таблиця 3

Основні параметри лінійного регресійного аналізу для індексу резистентності в обстежених дітей

Статистичний параметр	Залежний фактор (ІнР)
Незалежний фактор	ЗЛА
Константа В	-24,720
р (В)	0,031
95% ДІ для константи В	(-47,000)–(-2,440)
Коефіцієнт b для ЗЛА	0,253
р (b)	0,029
95% ДІ для коефіцієнта b	0,028–0,478
Коефіцієнт детермінації (R ²)	0,184

ВИСНОВКИ

- У переважної більшості обстежених дітей дошкільного віку (80,8%) зафіксовано підвищений вміст сироваткових ЦІКд.
- Із застосуванням бутстрепінгу між значеннями ІнР і вмістом ЦІКд підтверджено наявність помірної позитивної кореляції [$\rho=0,392$; $p=0,048$; ДІ: 0,072–0,644].
- Найтіснішу взаємозалежність продемонстровано в наступних парах вивчених показників: 1) ЦІКс*ЦІКд [$\rho=0,732$; $p<0,001$; ДІ: 0,471–0,875]; 2) С3с*С4 [$\rho=0,658$; $p<0,001$; ДІ: 0,352–0,837]; 3) ЦІКв*Ig(A+M+G) [$\rho=0,643$; $p<0,001$; ДІ: 0,330–0,829]; 4) ФАс*-ФАі [$\rho=0,601$; $p=0,001$; ДІ: 0,267–0,806].
- Шляхом лінійного регресійного аналізу зареєстровано залежність прогнозованого ІнР(п) лише від одного з врахованих імунологічних параметрів крові – ЗЛА, вплив якого на залежний показник склав 18,4% серед інших можливих предикторів.

Конфлікт інтересів. Автори представленої статті декларують відсутність конфлікту інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису.

Джерела фінансування. Виконання цього дослідження та написання рукопису було виконано без залучення зовнішнього фінансування.

REFERENCES

- Chiappini E, Santamaria F, Marseglia GL, Marchisio P, Galli L, Cutrera R, de Martino M, Antonini S, et al. Prevention of recurrent respiratory infections. Italian Journal of Pediatrics. 2021; 47:211. DOI: 10.1186/s13052-021-01150-0.
- Pasternak G, Lewandowicz-Uszyńska A, Królak-Olejek B. [Recurrent respiratory tract infections in children]. Polski Merkuriusz Lekarski. 2020; 49(286):260-266. [in Polish]. PMID: 32827422.
- Schaad UB, Esposito S, Razi CH. Diagnosis and Management of Recurrent Respiratory Tract Infections in Children: A Practical Guide. Archives of Pediatric Infectious Diseases. 2016; 4(1):e31039. DOI: 10.5812/pedinfest.31039.
- Zhang X, Dai X, Li X, Xie X, Chen Y, Chen Y, Guan H, Zhao Y. Recurrent respiratory tract infections in children might be associated with vitamin A status: A case-control study. Frontiers in Pediatrics. 2024; 11:1165037. DOI: 10.3389/fped.2023.1165037.
- Cardinale F, Zuccarino F, Serio C, Bizzoco F, Tricarico LG, Verriello G, Ciccarone D, Mastroilli C. Recurrent respiratory infections in children: new perspectives. Global Pediatrics. 2024; 8:100105. DOI: 10.1016/j.gped.2023.100105.
- Wang B, Zhou J, He B, Shi H, Liang X, Zhang Z, Luo C, Bai C, Ao Y, Yu H, Gu X. Reveal the Patterns of Prescriptions for Recurrent Respiratory Tract Infections' Treatment Based on Multiple Illustrious Senior Traditional

- Chinese Medicine Practitioners. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM. 2023; 2023:7982927. DOI: 10.1155/2023/7982927.
7. Cuppari C, Colavita L, Miraglia Del Giudice M, Chimenz R, Salpietro C. Recurrent respiratory infections between immunity and atopy. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2020; 31(Suppl 24):19-21. DOI: 10.1111/pai.13160.
 8. Esposito S, Jones M, Feleszko W, Martell JA, Falup-Pecurariu O, Geppe NA, Martín-Torres F, Shen K, Roth M, Principi N. Prevention of New Respiratory Episodes in Children with Recurrent Respiratory Infections: An Expert Consensus Statement from the World Association of Infectious Diseases and Immunological Disorders (WAidid). *Microorganisms*. 2020; 8(11):1810. DOI: 10.3390/microorganisms8111810.
 9. Khan Laghari I, Nawaz T, Mustafa S, Jamali AA, Fatima S. Role of multi-strain probiotics in preventing severity and frequency of recurrent respiratory tract infections in children. *BMC Pediatrics*. 2023; 23(1):505. DOI: 10.1186/s12887-023-04338-x.
 10. Nagaraju K, Shah R, Ganapathy S, Roy SR, Bhatia R, Kumar PS, Kanaujia S, Karadkhele A, Muchhala S, Rathod R, Suvarna VR. Practical Approach for the Diagnosis, Prevention, and Management of Recurrent Upper Respiratory Tract Infection in Children: Report from an Expert Closed-group Discussion. *Pediatric Infectious Disease*. 2021; 3(3):105-112. DOI: 10.5005/jp-journals-10081-1321.
 11. Heinonen S, Rodriguez-Fernandez R, Diaz A, Oliva Rodriguez-Pastor S, Ramilo O, Mejias A. Infant Immune Response to Respiratory Viral Infections. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. 2019; 39(3):361-376. DOI: 10.1016/j.iac.2019.03.005.
 12. Raniszewska A, Górska E, Kotuła I, Stelmaszczyk-Emmel A, Popko K, Ciepiela O. Recurrent respiratory tract infections in children - analysis of immunological examinations. *Central-European Journal of Immunology*. 2015; 40(2):167-173. DOI: 10.5114/ceji.2015.52830.
 13. Voloshin OM, Marushko YuV, Dontsova KM. [Recurrent respiratory diseases and humoral immune status in preschool children]. *Eastern Ukrainian Medical Journal*. 2020; 8(4):393-401. [in Ukrainian]. DOI: 10.21272/eumj.2020;8(4):393-401.
 14. Voloshin OM, Marushko YuV. [Peculiarities of cellular immunity among preschool children suffering from recurrent respiratory diseases]. *Bulletin of Problems Biology and Medicine*. 2021; 1:337-342. [in Ukrainian]. DOI: 10.29254/2077-4214-2021-1-159-337-342.
 15. Koloskova OK, Bezrukov LO, Shahova OO. [Clinical and immunological characteristics of bronchial asthma in adolescents based on the results of long-term observation]. *Sovremennaya Pediatriya*. 2018; 2:31-36. [in Ukrainian]. DOI: 10.15574/SP.2018.90.31.
 16. Voloshin OM, Marushko YuV, Savchenko II. [A bootstrap analysis of immune status in preschool children suffering from recurrent respiratory infections]. *Modern Pediatrics. Ukraine*. 2023; 3:13-21. [in Ukrainian]. DOI: 10.15574/SP.2023.131.13.
 17. Montel L, Pinon L, Fattaccioli J. A Multiparametric and high-throughput assay to quantify the influence of target size on phagocytosis. *Biophysical Journal*. 2019; 117(3):408-419. DOI: 10.1016/j.bpj.2019.06.021.
 18. Tymoshyna O, Ovcharenko L, Vertehel A, Samokhin I, Kryazhev O. [Comprehensive evaluation of some phagocytosis parameters in children aged 2–5 years, depending on the incidence of acute respiratory infections]. *Child's Health*. 2023; 18(1):47-52. [in Ukrainian]. DOI: 10.22141/2224-0551.18.1.2023.1558.
 19. Sachs B, Fatangare A, Sickmann A, Glässner A. Lymphocyte transformation test: History and current approaches. *Journal of Immunological Methods*. 2021; 493:113036. DOI: 10.1016/j.jim.2021.113036.
 20. Glässner A, Dubrall D, Weinhold L, Schmid M, Sachs B. Lymphocyte transformation test for drug allergy detection: When does it work? *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2022; 129(4):497-506.e3. DOI: 10.1016/j.anai.2022.06.014.
 21. Ankerhold J, Giese S, Kolb P, Voll RE, Göppert N, Ciminski K, Kreutz C, Lothar A, et al. Circulating multimeric immune complexes

- contribute to immunopathology in COVID-19. *Nature Communications*. 2022; 13(1):1-15. DOI: 10.1038/s41467-022-32867-z.
22. Coss SL, Zhou D, Chua GT, Aziz RA, Hoffman RP, Wu YL, Ardoin SP, Atkinson JP, Yu C. The complement system and human autoimmune diseases. *Journal of Autoimmunity*. 2023; 137:102979. DOI: 10.1016/j.jaut.2022.102979.
23. Meuleman M, Duval A, Grunenwald A, Rezola Artero M, Dermani M, Peliconi J, Revel M, Vieira-Martins P, et al. Usefulness and analytical performances of complement multiplex assay for measuring complement biomarkers in plasma. *Clinica Chimica Acta*. 2024; 554:117750. DOI: 10.1016/j.cca.2023.117750.
24. Zhou B, Niu W, Liu F, Yuan Y, Wang K, Zhang J, Wang Y, Zhang Z. Risk factors for recurrent respiratory tract infection in preschool-aged children. *Pediatric Research*. 2021; 90:223-231. DOI: 10.1038/s41390-020-01233-4.
25. Kansen HM, Lebbink MA, Mul J, van Erp FC, van Engelen M, de Vries E, Prevaes SMPJ, Le TM, van der Ent CK, Verhagen LM. Risk factors for atopic diseases and recurrent respiratory tract infections in children. *Pediatric Pulmonology*. 2020; 55(11):3168-3179. DOI: 10.1002/ppul.25042.

Article history:

Received: 11.05.2024

Revision requested: 15.05.2024

Revision received: 02.06.2024

Accepted: 25.06.2024

Published: 30.06.2024

**INTEGRATED ANALYSIS OF IMMUNOLOGICAL BLOOD PARAMETERS IN PRESCHOOL CHILDREN WITH
RECURRENT RESPIRATORY INFECTIONS**

^{1,2} *Voloshin O.M., ¹ Marushko Yu.V., ² Savchenko I.I.*

¹ *Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine*

² *Luhansk State Medical University, Rivne, Ukraine*

ditlikar@ukr.net

Background. Recurrent respiratory infections are a very pressing problem in everyday pediatric practice. They are most commonly diagnosed in preschool children. According to different researchers, their incidence varies considerably (6-30%). The temporary immaturity of immune system is thought to be one of the causes of frequent episodes of acute respiratory infections (ARI).

Aim: To determine the state of interdependence between the particular indicators of complex immunological blood test and the frequency of ARI episodes in preschool children.

Materials and methods. A total of 26 children (11 boys and 15 girls) aged 1-4 years, undergoing inpatient treatment on ARI, were involved in the clinical study. The number of ARI episodes during the previous year of their life was taken into account. Additionally, two integral indices of ARI recurrence, specifically the infection index and resistance index, were calculated. The children underwent a clinical blood test. Also, the particular indicators of humoral and cellular immunity, functional activity of immune cells (neutrophil phagocytic activity (PhA), lymphocyte blast transformation reaction), complement system (C3c, C4) and the several classes of circulating immune complexes (CIC) were analyzed. The statistical processing of the digital data was performed using IBM SPSS Statistics 28 licensed software with the calculation of the confidence interval (CI) for the main indicators.

Results. The prevalent majority of the examined children (80.8%) had an increased serum CIC(small) level. There was a moderate positive correlation between the resistance index values and the CIC(small) level [$p = 0.392$; $p = 0.048$; CI: 0.072–0.644]. The tightest interdependence was found in the following pairs of studied indicators: 1) CIC(medium)*CIC(small) [$p=0.732$; $p<0.001$; CI: 0.471–0.875]; 2) C3c*C4 [$p=0.658$; $p<0.001$; CI: 0.352–0.837]; 3) CIC(large)*Ig(A+M+G) [$p=0.643$; $p<0.001$; CI: 0.330–0.829]; 4) PhA(spontaneous)*PhA(induced) [$p=0.601$; $p=0.001$; CI: 0.267–0.806]. A linear regression analysis showed that the predicted resistance index was dependent on only one of the immunological blood parameters considered, specifically total leukocyte antigen. Among other possible predictors, the impact of this antigen on the dependent variable was 18.4%.

Conclusions. The particular indicators of a complex immunological blood test are highly interrelated. The results obtained should be taken into account when developing an integrated model for predicting the likelihood of recurrent ARI episodes in preschool children.

Key words: preschool children, frequent respiratory infections, immunological blood parameters, complex analysis.