© Коллектив авторов, 2021

Богомягкова Е.Н.¹, Солпов А.В.¹, Терешков П.П.¹, Трушина Н.Г.²,
Витковский Ю.А.¹

Возрастные изменения содержания $\alpha\beta$ -, $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов и их некоторых минорных субпопуляций у здоровых детей

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 672000, г. Чита, Российская Федерация

² Государственное учреждение здравоохранения «Детский клинический медицинский центр г. Читы», поликлиническое подразделение № 4, 672039, г. Чита, Российская Федерация

Резюме

Введение. Определение качественного и количественного состава клеток иммунной системы у здоровых детей важно для формирования пределов нормативных показателей содержания клеток, что необходимо как для исследовательских целей, так и для клинического применения. Данные о количественном содержании $\alpha\beta$ -, $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов и, особенно, их минорных субпопуляций у детей разных возрастных групп ограничены и крайне противоречивы, поэтому существует необходимость в проведении подобных исследований.

Цель исследования – изучение относительного и абсолютного содержания лимфоцитов, Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, их минорных субпопуляций – двойных негативных и двойных позитивных Т-лимфоцитов (DNT- и DPT-клеток) в периферической крови здоровых детей разного возраста, а также оценка корреляционной связи между исследуемыми параметрами и возрастом детей.

Материал и методы. Объектом исследования служили образцы венозной крови 83 здоровых детей (мальчиков и девочек) в возрасте от 7 мес до 14 лет. Для выявления содержания лимфоцитов и их субпопуляций применяли моноклональные антитела, конъюгированные с различными флуорохромами. Определение исследуемых параметров проводили с использованием проточной цитофлуориметрии.

Результаты. Исследовано относительное содержание и абсолютное количество лимфоцитов, Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов и их минорных субпопуляций (DNT- и DPT-клеток) у здоровых детей различных возрастных групп. Установлено снижение абсолютного числа $\gamma\delta$ -Т-киллеров в крови у детей старшего возраста. Содержание $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, DNT- и DPT-клеток оставалось одинаковым во всех возрастных группах.

Заключение. Содержание лимфоцитов зависит от возраста. Абсолютное число лимфоцитов, Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ -Т-клеток и $\gamma\delta$ -Т-киллеров прогрессивно снижается с возрастом, а количество $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, $\gamma\delta$ -Т-хелперов и их минорных субпопуляций (DPT- и DNT-клеток) остается неизменным.

Ключевые слова: Т-клетки; $\alpha\beta$ -Т-лимфоциты; $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты; здоровые дети; минорные субпопуляции; проточная цитофлуориметрия

Статья получена 11.05.2021. Принята в печать 17.07.2021.

Для цитирования: Богомягкова Е.Н., Солпов А.В., Терешков П.П., Трушина Н.Г., Витковский Ю.А. Возрастные изменения содержания $\alpha\beta$ -, $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов и их некоторых минорных субпопуляций у здоровых детей. Иммунология. 2021; 42 (4): 526–535. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-4-526-535>

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Богомягкова Елена Назаровна –
ассистент кафедры гистологии,
эмбриологии, цитологии
ФГБОУ ВО
ЧГМА Минздрава России,
Чита, Российская Федерация
E-mail: vokalist002@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8494-1390>

Bogomyagkova E.N.¹, Solpov A.V.¹, Tereshkov P.P.¹, Trushina N.G.², Vitkovsky Yu.A.¹

Age-related changes in the content of $\alpha\beta$ -, $\gamma\delta$ -T-lymphocytes and some its minor subpopulations in healthy children

¹ Chita State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, 672000, Chita, Russian Federation

² Children's Clinical Medical Center of Chita, Polyclinic Unit No. 4, 672039, Chita, Russian Federation

Abstract

Introduction. Determination of the qualitative and quantitative content of cells of the immune system in healthy children is important for the formation of normal cell's parameters, which is necessary both for research purposes and for clinical use. Data on the quantitative content of $\alpha\beta$ -, $\gamma\delta$ -T-lymphocytes and, especially, its minor subpopulations in children of different age groups are limited and extremely contradictory, so there is a need for such studies.

Aim of the study – to search the relative and absolute content of lymphocytes, T-lymphocytes, $\alpha\beta$ - and $\gamma\delta$ -T-lymphocytes, minor subpopulations: double negative and double positive T cells (DNT- and DPT-cells) in the peripheral blood of healthy children of different ages and to assess the correlation between the studied parameters and the age of children.

Material and methods. The venous blood samples of 83 healthy children (boys and girls), aged from 7 months to 14 years, was carried out. Monoclonal antibodies conjugated with various fluorochromes were used to detect the content of lymphocytes and its subpopulations. Determination of the number and percentage of lymphocytes and its subpopulations was carried out by flow cytometry.

Results. A decrease in the absolute number of $\gamma\delta$ -T-killers in the blood of older children was found. The content of $\gamma\delta$ -T-lymphocytes, DNT- and DPT-cells remained stable in all age groups.

Conclusion. The decrease in the percentage of lymphocytes in healthy children depends on age. The absolute number of lymphocytes, T-lymphocytes, $\alpha\beta$ -T cells and $\gamma\delta$ -T-killers progressively decreases with age, while the number of $\gamma\delta$ -T-lymphocytes, $\gamma\delta$ -T-helpers, DPT- and DNT-cells remains unchanged.

Keywords: T cells; $\alpha\beta$ -T-lymphocytes; $\gamma\delta$ -T-lymphocytes; healthy children; minor subpopulations; flow cytometry

Received 11.05.2021. Accepted 17.07.2021.

For citation: Bogomyagkova E.N., Solpov A.V., Tereshkov P.P., Trushina N.G., Vitkovsky Yu.A. Age-related changes in the content of $\alpha\beta$ -, $\gamma\delta$ -T-lymphocytes and some its minor subpopulations in healthy children. Immunologiya. 2021; 42 (4): 526–35. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-4-526-535> (in Russian)

Funding. The study had no sponsor support.

Conflict of interests. Authors declare no conflict of interests.

For correspondence

Elena N. Bogomyagkova –
Assistant of the Histology, Embryology,
Cytology Chair,
Chita State Medical Academy
of the MOH of Russia,
Chita, Russian Federation
E-mail: vokalist002@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8494-1390>

Введение

В процессе формирования иммунной системы практически каждый детский возрастной период является критическим. На определенных этапах онтогенеза формируются различные звенья иммунитета и в дальнейшем происходит их окончательное созревание. В последние годы установлено, что клетки основных популяций лимфоцитов делятся на множество минорных (малых) субпопуляций, функции которых изучены недостаточно. В периферической крови и в зоне воспаления к одним из представителей малых субпопуляций относят Т-лимфоциты, негативные по маркерам CD4 и CD8 (двойные негативные, DNT) либо экспрессирующие на поверхности и тот, и другой антиген (двойные позитивные, DPT). Данные о количественном содержании $\alpha\beta$ -, $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов и, особенно, их минорных субпопуляций у здоровых детей разных возрастных групп ограничены и крайне противоречивы [1–3].

По наличию на поверхности Т-клеточного рецептора (TCR) все Т-лимфоциты делятся на две большие группы: $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-клетки. Посредством этого рецептора обеспечиваются внеклеточные стимулирующие сигналы, приводящие к активации Т-лимфоцитов [4–6].

Развитие и функция $\alpha\beta$ -Т-клеток зависят от распознавания $\alpha\beta$ -TCR антигенных пептидов, представленных белками главного комплекса гистосовместимости (МНС). После распознавания комплекса пептид–МНС (рМНС) $\alpha\beta$ -Т-клетки дифференцируются в эффекторные клетки [7]. Отличительной особенностью $\gamma\delta$ -Т-клеток является способность распознавать широкий спектр антигенов без участия молекул МНС. $\gamma\delta$ -TCR распознает структурно разнообразные и биологически неродственные соединения, такие как липопептиды, белки микроорганизмов и собственные белки организма хозяина. Собственные протеины включают стресс-ассоциированные белки, неклассические МНС [8, 9] и классические комплексы рМНС [10]. При некоторых инфекциях $\gamma\delta$ -Т-клетки способствуют быстрому иммунному ответу против широкого спектра патогенов за счет присущей им способности продуцировать интерферон- γ (ИФН- γ) и интерлейкин-17 (ИЛ-17) [11, 12].

В тимусе развиваются незрелые Т-клетки с иммунофенотипом CD3⁺CD4⁺CD8[–]. Это CD3⁺-Т-лимфоциты, которые не экспрессируют ни поверхностные молекулы CD4, ни CD8, иначе их называют DNT (двойные негативные Т-лимфоциты). Известно, что молекула CD4 является корецептором для TCR, помогающим ему взаимодействовать с МНС-II. Но, несмотря на то что

в DNT-клетках отсутствует молекула CD4, DNT-клетки могут распознавать МНС-II и поддерживать антигенную специфичность [13]. DNT-клетки составляют 1–5 % всех Т-клеток. Установлено, что они обладают иммунорегуляторными функциями и являются мощными клетками-супрессорами [14, 15]. В отличие от $\alpha\beta$ -DNT-клеток, $\gamma\delta$ -DNT-клетки могут распознавать антигены без участия молекул МНС [16]. Считается, что DNT-клетки могут играть роль в аутоиммунных реакциях [17–19].

Двойные позитивные клетки ($CD3^+CD4^+CD8^+$) (DPT-клетки) пока также остаются плохо описанными, часто результаты посвященных им исследований противоречивы. Исследователи отмечают, что DPT-клетки могут играть роль мощных иммуносупрессоров или Т-лимфоцитов с высоким цитотоксическим потенциалом [20, 21]. Другие авторы указывают, что у DPT-клеток существуют разные фенотипы, которые являются результатом различного происхождения, и этим обосновано функциональное различие данных клеток [22].

Цель нашего исследования – изучение относительного и абсолютного содержания лимфоцитов, Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, их минорных субпопуляций (DNT- и DPT-клеток) в периферической крови здоровых детей разного возраста, а также оценка корреляционной связи между исследуемыми параметрами и возрастом детей.

Материал и методы

Участники исследования. Исследование проводилось согласно протоколу Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г. и Хельсинкской декларации ВМА 2000 г. Объектом исследования служили образцы венозной крови практически здоровых детей, полученные путем пункции периферической вены и собранные в вакуумные пробирки с цитратом Na (3,8 %). Все исследования проводились в рамках диспансерной программы для своевременного выявления скрытых вариантов обменной патологии. Признаки воспалительной реакции в исследуемых группах детей по состоянию периферической крови (показатели общего

Рис. 1. Относительное содержание Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов у детей различного возраста

Здесь и на рис. 2: * – значимые различия по критерию Н Краскела–Уоллиса; ** – различия между отдельными группами достоверны ($p < 0,01$).

Таблица 1. Относительное содержание субпопуляций $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов у детей различного возраста

Изучаемая субпопуляция	Исследуемая группа						Статистическая значимость
	1-я группа (n = 14)	2-я группа (n = 7)	3-я группа (n = 19)	4-я группа (n = 15)	5-я группа (n = 16)	6-я группа (n = 12)	
$\alpha\beta$ -Т-хелперы	63,64 (59,71–70,61)	74,34 (61,17–80,15)	62,96 (53,77–66,45)	57,09 (54,8–61,45)	58,96 (56,46–63,96)	56,94 (56,12–61,41)	$H = 8,56$ $p = 0,13$
$\alpha\beta$ -Т-киллеры	34,66 (27,6–42,32)	23,09 (18–35,9)	34,11 (31,01–43,76)	39,91 (35,86–42,26)	37 (33,13–40,53)	39,26 (35,66–40,77)	$H = 8,98$ $p = 0,11$
$\gamma\delta$ -Т-хелперы	2,92 (1,85–4,72)	2 (90,19–8,28)	1,05 (0,87–2,87)	1,19 (0,58–3,78)	1,2 (0,8–3,02)	2,71 (0,35–8,93)	$H = 7,78$ $p = 0,17$
$\gamma\delta$ -Т-киллеры	23,44 (18,37–27,8)	30,57 (23,76–32,51)	21,08 (18,7–24,51)	26,04 (22,25–34,12)	22,07 (16,98–27,41)	20,63 (16,7–28,42)	$H = 7,05$ $p = 0,22$
DPT-клетки	0,33 (0,26–0,59)	0,44 (0,22–0,9)	0,31 (0,3–0,57)	0,37 (0,13–1,12)	0,41 (0,25–1,35)	0,52 (0,38–0,8)	$H = 3,37$ $p = 0,64$
DNT-клетки	6,16 (4,42–10,41)	4,57 (2,93–8,22)	8,41 (7,04–11,91)	8,61 (6,4–10,12)	11,57 (8,08–12,14)	6,71 (5,58–9,74)	$H = 10,46$ $p = 0,06$

анализа крови, содержание белков острой фазы воспаления) отсутствовали. Обследовано в общей сложности 83 практически здоровых ребенка (47 мальчиков и 36 девочек) в возрасте от 7 мес до 14 лет. Все дети были подразделены на 6 исследуемых групп: 1-я группа – дети до 1 года, 2-я группа – от 1 года до 2 лет, 3-я группа – от 2 до 5 лет, 4-я группа – от 6 до 8 лет, 5-я группа – от 8 до 12, 6-я группа – дети старше 12 лет. Подготовку образцов периферической крови и настройку проточного цитофлуориметра проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными С.В. Хайдуковым и соавт. [23].

Критерии включения в исследование:

- информированное добровольное согласие родителей детей на участие в исследовании;
- здоровые дети в возрасте от 7 мес до 14 лет, после осмотра врачом-педиатром, без клинических признаков и отсутствием в анамнезе аллергии, инфекционных, воспалительных и хронических заболеваний, не принимающие лекарственных средств во время исследования и в течение 2 нед до проведения исследования.

Критерии исключения из исследования:

- дети в возрастной категории старше 14 лет;
- дети с инфекционными, воспалительными и аллергическими заболеваниями в анамнезе; дети, принимающие лекарственные средства.

Цитометрический анализ. Для выявления основных популяций и субпопуляций лимфоцитов применялись моноклональные антитела (МкАт), конъюгированные с различными флуорохромами для выявления Т-лимфоцитов ($CD3^+$), $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов ($CD3^+TCR\alpha\beta$), $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов ($CD3^+TCR\gamma\delta^+$), $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов хелперов ($CD3^+CD4^+CD8^-TCR\alpha\beta^+$) и киллеров ($CD3^+CD4^-CD8^+TCR\alpha\beta^+$), $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов хелперов ($CD3^+CD4^+CD8^-TCR\gamma\delta^+$) и киллеров ($CD3^+CD4^-CD8^+TCR\gamma\delta^+$), DNT ($CD3^+CD4^-CD8^-$) и DPT ($CD3^+CD4^+CD8^+$). Использовались МкАт производства Beckman Coulter (США). Эритроциты из образцов удаляли при помощи коммерческого лизирующего раствора BD FACST[™] Lysing Solution (кат. № 349202, Becton Dickinson, США).

По завершении инкубации образцы однократно отмывали от несвязавшихся антител избытком забуференного фосфатами физиологического раствора (7 мин при 300 g), а полученный клеточный осадок ресуспендировали в 300 мкл забуференного фосфатами физиологического раствора, содержавшего 1 % нейтрального параформальдегида (кат. № HT5011, Sigma-Aldrich, США). Абсолютные значения были получены в одноплатформенной системе с помощью реагента Flow Count[™] (Beckman Coulter, США).

Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре Cyto FLEX LX (Beckman Coulter, США), оснащенном четырьмя диодными лазерами 355, 405, 488 и 561 нм. Обработку цитофлуориметрических данных проводили при помощи программ Cyt Expertsoftware v.2.0 и Kaluza[™] v.2.1.1 (Beckman Coulter, США). В каждом образце анализировалось $\geq 50\ 000$ лимфоцитов периферической крови.

Статистическая обработка. При проведении статистического анализа руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL). Оценка нормальности распределения признаков проводилась с помощью критерия Шапиро–Уилка. Учитывая негауссово распределение, количественные признаки представлены в виде медианы и 95% доверительного интервала: Me (95 % ДИ).

Для сравнения 3 исследуемых групп по одному количественному признаку применялся критерий Краскела–Уоллиса (H). При наличии статистически значимых различий проводилось попарное сравнение с помощью U -критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. Во всех случаях $p < 0,05$ считали статистически значимым. Для определения фактической степени параллелизма между исследуемыми параметрами и возрастом ребенка использовали коэффициент корреляции Спирмена. Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока. Статистическая обработка результатов исследования осуществ-

влялась с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (International Business Machines Corporation, license No.Z125-3301-14, США).

Результаты

Как и следовало ожидать, у детей начиная с 2-летнего возраста отмечалось постепенное снижение содержания лимфоцитов в 1,5 раза, и к пубертатному периоду их содержание достигло 42 % от общего числа лейкоцитов по сравнению с группой детей в возрасте до 1 года ($U = 15,0$; $p < 0,001$) (рис. 1). Различие относительного числа лимфоцитов между группами значимо проявлялось с 6-летнего возраста ($p < 0,01$). У детей в возрасте от 1 года до 5 лет эти показатели не различались между собой ($p > 0,05$). Средние значения содержания Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, а также их некоторых субпопуляций в периферической крови детей разного возраста представлены на рис. 1 и в табл. 1. Из представленных данных видно, что процентное содержание Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов и их субпопуляций ($\alpha\beta$ -Т-хелперов, $\alpha\beta$ -Т-киллеров, $\gamma\delta$ -Т-хелперов, $\gamma\delta$ -Т-киллеров, минорных DNT- и DPT-клеток) с возрастом не менялось во всех исследуемых группах ($p > 0,05$).

Между возрастом детей и относительным числом лимфоцитов установлена заметная обратная корреляционная связь ($r = -0,64$; $p < 0,001$). При этом наблюдалась слабая положительная связь между возрастом и относительным числом $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов ($r = 0,22$; $p < 0,05$) и слабая обратная – с относительным числом $\alpha\beta$ -Т-хелперов ($r = -0,22$; $p < 0,05$). Не обнаружены корреляционные связи для других субпопуляций Т-лимфоцитов, включая минорные DNT- и DPT-субпопуляции ($p > 0,05$), что подтверждает наши предположения об отсутствии влияния возраста на процентное содержание субпопуляций Т-лимфоцитов у детей.

Таким образом, изучение относительного содержания Т-лимфоцитов, их популяций и субпопуляций полностью не раскрывает особенности возрастной динамики клеточного состава иммуокompetентных клеток у детей.

Иная картина открылась при анализе абсолютного содержания изучаемых популяций и субпопуляций Т-лимфоцитов. Так, обнаружено, что абсолютное число лимфоцитов, Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ -Т-клеток и $\gamma\delta$ -Т-киллеров снижалось по мере увеличения возраста детей. Эти изменения представлены на рис. 2. Установлено, что у детей абсолютное содержание Т-лимфоцитов в течение первых 8 лет остается примерно на одном уровне,

Рис. 2. Абсолютное содержание Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов у детей различного возраста

Таблица 2. Абсолютное содержание субпопуляций $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов у детей различного возраста

Изучаемая субпопуляция	Исследуемая группа						Статистическая значимость
	1-я группа (n = 14)	2-я группа (n = 7)	3-я группа (n = 19)	4-я группа (n = 15)	5-я группа (n = 16)	6-я группа (n = 12)	
$\alpha\beta$ -Т-хелперы	3527 (2633,41–5442,25)	4233 (2805,23–7263,62)	3434,5 (2554,97–3936,15)	2400 (1958,46–2915,41)	1638,5 (1482,06–2327,56)	1963 (1565,59–2220,41)	$H = 38,47$ $p < 0,001$
$\alpha\beta$ -Т-киллеры	1735 (1295,49–3171,43)	1735 (947,7–2890,01)	1482,5 (1305,6–3268,73)	1637 (1363,53–1810,21)	1245,5 (942,48–1396,39)	1244 (1015,49–1430,67)	$H = 21,1$ $p < 0,001$
$\gamma\delta$ -Т-хелперы	6 (5,45–19,38)	10 (1,28–26,15)	5 (3,67–13,67)	3 (1,31–25,45)	4 (3,19–6,56)	6 (3,28–27,95)	$H = 8,84$ $p = 0,12$
$\gamma\delta$ -Т-киллеры	73 (64,37–108,8)	102 (74,65–150,78)	118,5 (87,77–207,79)	94 (69,08–153,98)	73,5 (54,78–105,34)	41,5 (31,2–91,63)	$H = 12,14$ $p = 0,01$
DPT-клетки	25 (15,96–46,47)	43 (13,1–75,18)	17 (17,64–30,99)	15 (12,95–33,72)	13 (7,77–47,6)	17 (12,71–28,63)	$H = 4,44$ $p = 0,49$
DNT-клетки	392 (157,58–996,13)	363 (241,93–521,21)	542 (327,92–1145,87)	384 (275,66–478,21)	398 (261,64–453,61)	208 (171,06–381,11)	$H = 7,31$ $p = 0,20$

но начиная с 6-летнего возраста оно начинает снижаться вплоть до самой старшей возрастной группы ($p < 0,01$). С возрастом абсолютное содержание клеток уменьшается и в 12 лет оно составляет примерно половину от общего количества лимфоцитов по сравнению с детьми младенческого возраста ($p < 0,05$). Уменьшение количества клеток наблюдалось практически во всех сравниваемых группах ($p < 0,001$). Так, медианы абсолютного содержания лимфоцитов уменьшались в 2,06 раза ($U = 8,0$; $p < 0,001$), а Т-лимфоцитов – в 2,03 раза ($U = 6,0$; $p < 0,001$) (рис. 2). Общее абсолютное содержание $\alpha\beta$ -Т-клеток уменьшалось по мере взросления ребенка в 2,05 раза ($U = 4,0$, $p < 0,001$) (см. рис. 2).

Результаты исследования также представлены в табл. 2. В отличие от относительных величин, выявлено снижение абсолютного содержания $\alpha\beta$ -Т-хелперов, $\alpha\beta$ -Т-киллеров и $\gamma\delta$ -Т-киллеров во всех возрастных группах. Так, у детей 6-й группы по сравнению с 1-й абсолютное содержание $\alpha\beta$ -Т-хелперов падало в 1,8 раза, а абсолютное содержание $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов киллеров – в 1,4 раза ($U = 4,0$, $p < 0,001$; $U = 18,0$, $p = 0,001$, соответственно). К 12-летнему возрасту абсолютное со-

держание $\gamma\delta$ -Т-киллеров также снижалось в 1,8 раза по сравнению с младенческим возрастом ($U = 34,54$; $p = 0,01$) (табл. 2).

Абсолютное содержание $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, $\gamma\delta$ -Т-хелперов, DPT- и DNT-клеток представлено на рис. 2 и в табл. 2. Обращает на себя внимание низкое абсолютное содержание DPT-клеток у детей всех исследуемых групп. В то же время абсолютное содержание DNT-клеток оставалось неизменным во всех возрастных группах (см. рис. 2, табл. 2). В этих случаях отсутствие динамики абсолютного содержания лимфоцитов указанных субпопуляций совпадает с таковой относительного содержания клеток.

Таким образом, абсолютное содержание лимфоцитов, Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ -Т-клеток и $\gamma\delta$ -Т-киллеров снижалось по мере увеличения возраста детей, а абсолютное содержание $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, $\gamma\delta$ -Т-хелперов, DPT- и DNT-клеток оставалось неизменным во всех возрастных группах.

Установлено, что возраст оказывает влияние на абсолютное число $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов и их некоторых минорных субпопуляций (табл. 3). Обнаружена замет-

Таблица 3. Фактическая степень параллелизма между абсолютным содержанием субпопуляций Т-лимфоцитов и возрастом ребенка

Параметр	Коэффициент корреляции Спирмена	Статистическая значимость	Сила связи по шкале Чеддока
Лимфоциты	-0,61	$p < 0,001$	Заметная обратная
Т-лимфоциты	-0,62	$p < 0,001$	Заметная обратная
$\alpha\beta$ -Т-лимфоциты	-0,64	$p < 0,001$	Заметная обратная
$\alpha\beta$ -Т-хелперы	-0,65	$p < 0,001$	Заметная обратная
$\alpha\beta$ -Т-киллеры	-0,45	$p < 0,001$	Умеренная обратная
$\gamma\delta$ -Т-лимфоциты	-0,2	$p = 0,08$	Слабая обратная
$\gamma\delta$ -Т-хелперы	-0,2	$p = 0,08$	Слабая обратная
$\gamma\delta$ -Т-киллеры	-0,3	$p = 0,005$	Умеренная обратная

ная обратная связь между абсолютным числом лимфоцитов, Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ -Т-клеток и $\alpha\beta$ -Т-хелперов и возрастом детей, а также установлена умеренная обратная связь между абсолютным числом $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-киллеров и детским возрастом. В остальных случаях наблюдались слабые корреляционные связи между этими показателями.

Обсуждение

Определение качественного и количественного состава клеток иммунной системы у здоровых детей имеет важное значение для понимания физиологических особенностей развивающегося организма ребенка, а также для формирования шкалы нормальных показателей содержания клеток, что необходимо как для исследовательских целей, так и для клинического применения с целью диагностики и контроля лечения различных заболеваний.

Установлено, что содержание циркулирующих лимфоцитов у детей претерпевает изменения на протяжении всего онтогенеза иммунной системы ребенка [24]. Так, в нашем исследовании показано, что абсолютное содержание $\alpha\beta$ -Т-клеток, составляющих основной пул всех лимфоцитов, с возрастом снижается. Такая же динамика наблюдается и для абсолютного содержания $\gamma\delta$ -Т-киллеров на фоне постоянного уровня $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов.

Известно, что у детей раннего возраста врожденный иммунитет преобладает над специфическими адаптивными реакциями иммунной системы [25, 26]. $\gamma\delta$ -Т-клетки являются представителями как врожденного, так и адаптивного иммунитета. $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты напрямую распознают и уничтожают клетки-мишени за счет своей цитотоксической активности или формируют иммунный ответ на антиген в кооперации с другими иммунными клетками. В отличие от $\alpha\beta$ -Т-клеток, которые в основном покидают тимус в качестве наивных клеток, $\gamma\delta$ -Т-клетки уже изначально обладают эффекторной функцией [27]. После рождения и до 6–10 лет у детей $\gamma\delta$ -Т-клетки начинают быстро заселять периферические ткани и барьерные органы и в зависимости от места локализации составляют 10–100 % от общего числа лимфоцитов. Миграция этих клеток прежде всего необходима для выполнения их цитотоксических функций [28]. По причине усиления воздействия патогенов на иммунитет ребенка сразу после рождения и из-за задержки созревания $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов наблюдается преобладание защитной роли неонатальных $\gamma\delta$ -Т-клеток [29, 30]. По-видимому, вышеперечисленные свойства $\gamma\delta$ -Т-клеток обуславливают то, что их количество остается неизменным в крови у детей исследованных нами групп.

Среди минорных субпопуляций $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов выделяют особую группу – DNT-клетки. Эти лимфоциты составляют ~70 % от общего числа $\gamma\delta$ -Т-клеток [31]. DNT-клетки экспрессируют промежуточные уровни CD3/TCR и подразделяются на $\alpha\beta$ -DNT- и $\gamma\delta$ -DNT-клетки. Из них $\gamma\delta$ -DNT-клетки преобладают в периферической крови. DNT-лимфоциты способны выступать в роли иммунорегуляторных клеток, подавляя

антиген-специфичный Т-клеточный иммунный ответ [32]. Обнаружено, что относительное и абсолютное содержание этих клеток также оставалось неизменными в исследуемых группах. Полученные результаты изучения абсолютного содержания DNT-клеток согласуются с данными исследования Y. Ding и соавт. [33]. В то же время другими авторами показано, что относительное содержание $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов и DNT-клеток увеличивается с возрастом у детей до 5–10 лет [34]. Несмотря на накопленные за последнее время сведения, роль DNT-клеток в развитии физиологических и патологических реакций организма еще до конца не изучена.

К минорным субпопуляциям $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов относят также DPT-клетки. Обнаружено, что в крови здоровых детей исследованных групп содержание этих клеток регистрировалось на постоянном низком количественном уровне. Ранее показано, что DPT-клетки являются антиген-специфическими клетками памяти с функциями как CD4⁺-, так и CD8⁺-Т-клеток: они продуцируют Th1-цитокины и обладают цитотоксичностью на уровне CD8⁺-Т-киллеров [35, 36]. По утверждению ряда авторов, увеличение численности этой минорной субпопуляции Т-клеток возникает при патологических состояниях, таких как хронические вирусные инфекции (ВЭБ, ВИЧ), а также при некоторых аутоиммунных, аллергических и онкологических заболеваниях [37].

Выявлено, что на фоне неизменного уровня $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, $\gamma\delta$ -Т-хелперов и их некоторых минорных субпопуляций в крови у здоровых детей с возрастом снижалось содержание $\gamma\delta$ -Т-киллеров. $\gamma\delta$ -Т-киллеры являются яркими представителями клеток врожденного иммунитета. Они способны экстренно мигрировать в ткани из кровотока, компенсируя недостаточность периферического адаптивного иммунного ответа у детей, особенно в раннем возрасте. Их высокое содержание на ранних этапах постнатального онтогенеза необходимо для поддержания адекватной защиты против огромного количества антигенов, с которыми контактирует ребенок. Вероятно, за счет инволютивных процессов в тимусе, высокой способности к миграции в ткани из циркуляции и подавляющего влияния половых гормонов число лимфоцитов у детей к 12 годам снижается [38].

Заключение

Таким образом, содержание лимфоцитов зависит от возраста. Абсолютное содержание лимфоцитов, Т-лимфоцитов, $\alpha\beta$ -Т-клеток и $\gamma\delta$ -Т-киллеров прогрессивно снижается с возрастом, а количество $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, $\gamma\delta$ -Т-хелперов и их минорных субпопуляций (DPT- и DNT-клеток) остается неизменным.

Вклад авторов. Концепция и дизайн исследования – Е.Н. Богомякова, А.В. Солпов; сбор и обработка материала – Е.Н. Богомякова, Н.Г. Трушина, П.П. Терешков; написание текста – Е.Н. Богомякова; редактирование – А.В. Солпов, Ю.А. Витковский.

Выражаем благодарность В.А. Мудрову за статистическую обработку данных.

■ Литература

1. Tosato F., Bucciol G., Pantano G., Putti M.C., Sanzari M.C., Basso G., Plebani M. Lymphocytes subsets reference values in childhood. *Cytometry A*. 2015; 87 (1): 81–5. DOI: <https://www.doi.org/10.1002/cyto.a.22520>
2. Valiathan R., Ashman M., Asthana D. Effects of Ageing on the Immune System: Infants to Elderly. *Scand J Immunol*. 2016; 83 (4): 255–66. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/sji.12413>
3. Mandala W.L., Ananworanich J., Apornpong T., Kerr S.J., MacLennan J.M., Hanson C., Jaimulwong T., Gondwe E.N., Rosenblatt H.M., Bunupuradah T., Molyneux M.E., Spector S.A., Pancharoen C., Gelman R.S., Mac Lennan C.A., Shearer W.T. Control lymphocyte subsets: can one country's values serve for another's? *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 134 (3): 759–61.e8. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.jaci.2014.06.030>
4. Kumar B.V., Connors T., Farber D.L. Human T cell development, localization, and function throughout life. *Immunity*. 2018; 48 (2): 202–213. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.immuni.2018.01.007>
5. Hwang J.R., Byeon Y., Kim D., Park S.G. Recent insights of T cell receptor-mediated signaling pathways for T cell activation and development. *Exp Mol Med*. 2020; 52 (5): 750–61. DOI: <https://www.doi.org/10.1038/s12276-020-0435-8>
6. Muro R., Takayanagi H., Nitta T. T cell receptor signaling for $\gamma\delta$ T cell development. *Inflamm Regen*. 2019; 39 (6). DOI: <https://www.doi.org/10.1186/s41232-019-0095-z>
7. Gaud G., Lesourne R., Love P.E. Regulatory mechanisms in T cell receptor signaling. *Nat Rev Immunol*. 2018; (8): 485–97. DOI: <https://www.doi.org/10.1038/s41577-018-0020-8>
8. Vermijlen D., Gatti D., Kouzeli A., Rus T., Eberl M. $\gamma\delta$ T cell responses: How many ligands will it take till we know? *Semin Cell Dev Biol*. 2018; 84: 75–86. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.10.009>
9. Солпова О.А. Участие TCR $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, Р-селектина в формировании клеточно-тромбоцитарных коагрегатов. *ЭНИ Забайкальский медицинский вестник*. 2016; (2): 71–9.
10. Benveniste P.M., Roy S., Nakatsugawa M., Chen E.L.Y., Nguyen L., Millar D.G., Ohashi P.S., Hirano N., Adams E.J., Zúñiga-Pflücker J.C. Generation and molecular recognition of melanoma-associated antigen-specific human $\gamma\delta$ T cells. *Sci Immunol*. 2018; 3 (30): eaav4036. DOI: <https://www.doi.org/10.1126/sciimmunol.aav4036>
11. Guo X.J., Dash P., Crawford J.C., Allen E.K., Zamora A.E., Boyd D.F., Duan S., Bajracharya R., Awad W.A., Apiwattanakul N., Vogel P., Kanneganti T.D., Thomas P.G. Lung $\gamma\delta$ T Cells Mediate Protective Responses during Neonatal Influenza Infection that Are Associated with Type 2 Immunity. *Immunity*. 2018; 49 (3): 531–44.e6. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.immuni.2018.07.011>
12. Lawand M., Déchanet-Merville J., Dieu-Nosjean M.C. Key Features of Gamma-Delta T-Cell Subsets in Human Diseases and Their Immunotherapeutic Implications. *Front Immunol*. 2017; 8: 761. DOI: <https://www.doi.org/10.3389/fimmu.2017.00761>
13. Tian D., Yang L., Wang S. et al. Double negative T cells mediate Lag3-dependent antigen-specific protection in allergic asthma. *Nat Commun*. 2019; (10): 4246. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12243-0>
14. Haug T., Aigner M., Peuser M.M., Strobl C.D., Hildner K., Mougiakakos D., Bruns H., Mackensen A., Völkl S. Human double-negative regulatory T-cells induce a metabolic and functional switch in effector T-cells by suppressing mTOR activity. *Front Immunol*. 2019; 10: 883. DOI: <https://www.doi.org/10.3389/fimmu.2019.00883>
15. Lerkvaleekul B., Apiwattanakul N., Klinmalai C., Hongeng S., Vilaiyuk S. Age-related changes in lymphocyte subpopulations in healthy Thai children. *J Clin Lab Anal*. 2020; 34 (5): e23156. DOI: <https://www.doi.org/10.1002/jcla.23156>
16. Liapis K., Tsagarakis N.J., Panitsas F., Taparkou A., Liapis I., Roubakis C., Tsokanas D., Vasileiou P., Grigoriou E., Kakipoulos G., Psarra K., Farmaki E., Paterakis G. Causes of double-negative T-cell lymphocytosis in children and adults. *J Clin Pathol*. 2020; 73 (7): 431–8. DOI: <https://www.doi.org/10.1136/jclinpath-2019-206255>
17. Li H., Adamopoulos I.E., Moulton V.R., Stillman I.E., Herbert Z., Moon J.J., Sharabi A., Krishfield S., Tsokos M.G., Tsokos G.C. Systemic lupus erythematosus favors the generation of IL-17 producing double negative T cells. *Nat Commun*. 2020; 11 (1): 2859. DOI: <https://www.doi.org/10.1038/s41467-020-16636-4>
18. Alexander J.J., Jacob A., Chang A., Quigg R.J., Jarvis J.N. Double negative T cells, a potential biomarker for systemic lupus erythematosus. *Precis ClinMed*. 2020; 3 (1): 34–43. DOI: <https://www.doi.org/10.1093/pcmedi/pbaa001>
19. Brandt D., Hedrich C.M. TCR $\alpha\beta$ CD3⁺CD4⁺CD8⁺ (double negative) T cells in autoimmunity. *Autoimmunity Reviews*. 2018; 17 (4): 422–30. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.autrev.2018.02.001>
20. Overgaard N.H., Jung J.W., Steptoe R.J., Wells J.W. CD4⁺/CD8⁺ double-positive T cells: more than just a developmental stage? *J Leukoc Biol*. 2015; 97 (1): 31–8. DOI: <https://www.doi.org/10.1189/jlb.1RU0814-382>
21. Bohner P., Chevalier M.F., Cesson V., Rodrigues-Dias S.C., Dartiguenave F., Burrini R., Tawadros T., Valerio M., Lucca I., Nardelli-Haeffliger D., Jichlinski P., Derré L. Double Positive CD4⁺CD8⁺ T Cells Are Enriched in Urological Cancers and Favor T Helper-2 Polarization. *Front Immunol*. 2019; 10: 622. DOI: <https://www.doi.org/10.3389/fimmu.2019.00622>
22. Parrot T., Gorin J.B., Ponzetta A., Maleki K.T., Kamman T., Emgård J., Perez-Potti A., Sekine T., Rivera-Ballesteros O., Karolinska COVID-19 Study Group, Gredmark-Russ S., Rooyackers O., Folkesson E., Eriksson L.I., Norrby-Teglund A., Ljunggren H.G., Björkström N.K., Aleman S., Buggert M., Klingström J., Strålin K., Sandberg J.K. MAIT cell activation and dynamics associated with COVID-19 disease severity. *Sci Immunol*. 2020; 5 (51): eabe1670. DOI: <https://www.doi.org/10.1126/sciimmunol.abe1670>
23. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (проект). *Медицинская иммунология*. 2012; 14 (3): 255–68.
24. Marchant A., Kollmann T.R. Understanding the ontogeny of the immune system to promote immune-mediated health for life. *Front Immunol*. 2015; 6: 77. DOI: <https://www.doi.org/10.3389/fimmu.2015.00077>
25. Kollmann T.R., Kampmann B., Mazmanian S.K., Marchant A., Levy O. Protecting the newborn and young infant from infectious diseases: lessons from immune ontogeny. *Immunity*. 2017; 46 (3): 350–63. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.immuni.2017.03.009>
26. Semmes E.C., Chen J.-L., Goswami I.R., Burt T.D., Permar S.R., Fouda G.G. Understanding early-life adaptive immunity to guide interventions for pediatric healthfront. *Immunol*. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.595297>
27. Parker M.E., Ciofani M. Regulation of $\gamma\delta$ T Cell Effector Diversification in the Thymus. *Front Immunol*. 2020; 11: 42. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00042>
28. Fischer M.A., Golovchenko N.B., Edelblum K.L. $\gamma\delta$ T cell migration: Separating trafficking from surveillance behaviors at barrier surfaces. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/imr.12915>
29. Dimova T., Brouwer M., Gosselin F., Tassignon J., Leo O., Donner C., Marchant A., Vermijlen D. Effector V γ 9V δ 2 T cells dominate the human fetal $\gamma\delta$ T-cell repertoire. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015; 112 (6): E556–65. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1412058112>
30. Clark B.L., Thomas P.G. A Cell for the Ages: Human $\gamma\delta$ T Cells across the Lifespan. *Int J Mol Sci*. 2020; 21 (23): 8903. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21238903>
31. Xu W., Lau Z.W.X., Fulop T., Larbi A. The Aging of $\gamma\delta$ T Cells. *Cells*. 2020; 9 (5): 1181. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9051181>
32. D'Acquisto F., Crompton T. CD3⁺CD4⁺CD8⁺ (double negative) T cells: saviours or villains of the immune response? *Biochem Pharmacol*. 2011; 82 (4): 333–40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2011.05.019>
33. Ding Yu., Zhou L., Xia Yu., Song H., Yang J., Zhao X. Reference values for peripheral blood lymphocyte subsets of healthy children in China. *Journal of Allergology and Clinical Immunology*. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.04.022>
34. Valiathan R., Ashman M., Asthana D. Effects of Ageing on the Immune System: Infants to Elderly. *Scand J Immunol*. 2016; 83 (4): 255–66. DOI: <https://doi.org/10.1111/sji.12413>

35. Хайдуков С.В. Малые субпопуляции Т-хелперов (Th наивные тимические, Th наивные центральные, Th9, Th22и CD4⁺CD8⁺ дважды положительные Т-клетки. Медицинская иммунология. 2013; 15 (6): 503–12.

36. Хайдуков С.В., Байдун Л.В. Современные подходы к оценке клеточной составляющей иммунного статуса. Медицинский алфавит. 2015; 2 (8): 44–51.

■ References

1. Tosato F., Bucciol G., Pantano G., Putti M.C., Sanzari M.C., Basso G., Plebani M. Lymphocytes subsets reference values in childhood. *Cytometry A*. 2015; 87 (1): 81–5. DOI: <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22520>
2. Valiathan R., Ashman M., Asthana D. Effects of Ageing on the Immune System: Infants to Elderly. *Scand J Immunol*. 2016; 83 (4): 255–66. DOI: <https://doi.org/10.1111/sji.12413>
3. Mandala W.L., Ananworanich J., Apornpong T., Kerr S.J., MacLennan J.M., Hanson C., Jaimulwong T., Gondwe E.N., Rosenblatt H.M., Bunupuradah T., Molyneux M.E., Spector S.A., Pancharoen C., Gelman R.S., MacLennan C.A., Shearer W.T. Control lymphocyte subsets: can one country's values serve for another's? *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 134 (3): 759–61.e8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.06.030>
4. Kumar B.V., Connors T., Farber D.L. Human T cell development, localization, and function throughout life. *Immunity*. 2018; 48 (2): 202–13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.01.007>
5. Hwang J.R., Byeon Y., Kim D., Park S.G. Recent insights of T cell receptor-mediated signaling pathways for T cell activation and development. *Experimental & Molecular Medicine*. 2020; 52: 750–61. DOI: <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0435-8>
6. Muro R., Takayanagi H., Nitta T. T cell receptor signaling for $\gamma\delta$ Tcell. *Inflammation and Regeneration*. 2019; 39: 6. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41232-019-0095-z>
7. Gaud G., Lesourne R., Love P.E. Regulatory mechanisms in T cell receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. 2018; (8): 485–97. DOI: <https://www.doi.org/10.1038/s41577-018-0020-8>
8. Vermijden D., Gatti D., Kouzeli A., Rus T., Eberl M. T cell responses: How many ligands will it take till we know? *Semin Cell Dev Biol*. 2018; 84: 75–86. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.10.009>
9. Solpova O.A. Participation of TCR $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T-lymphocytes, P-selectin in the formation of cell-platelet coaggregates. *ENI Zabaikalsky Medical Bulletin*. 2016; 2: 71–9. (in Russian)
10. Benveniste P.M., Roy S., Nakatsugawa M., Chen E.L.Y., Nguyen L., Millar D.G., Ohashi P.S., Hirano N., Adams E.J., Zúñiga-Pflücker J.C. Generation and molecular recognition of melanoma-associated antigen-specific human $\gamma\delta$ T cells. *Sci Immunol*. 2018; 3 (30): eaav4036. DOI: <https://www.doi.org/10.1126/sciimmunol.aav4036>
11. Guo X.J., Dash P., Crawford J.C., Allen E.K., Zamora A.E., Boyd D.F., Duan S., Bajracharya R., Awad W.A., Apiwatanakul N., Vogel P., Kanneganti T.D., Thomas P.G. Lung $\gamma\delta$ T Cells Mediate Protective Responses during Neonatal Influenza Infection that Are Associated with Type 2 Immunity. *Immunity*. 2018; 49 (3): 531–44.e6. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.immuni.2018.07.011>
12. Lawand M., Déchanet-Merville J., Dieu-Nosjean M.-C. Key features of gamma-delta T-cell subsets in human diseases and their immunotherapeutic implications. *Front. Immunol*. 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00761>
13. Tian D., Yang L., Wang S., et al. Double negative T cells mediate Lag3-dependent antigen-specific protection in allergic asthma. *Nat Commun*. 2019; 10: 4246. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12243-0>
14. Haug T., Aigner M., Peuser M.M., Strobl C.D., Hildner K., Mougiakakos D., Bruns H., Mackensen A., Völkl S. Human Double-Negative Regulatory T-Cells Induce a Metabolic and Functional Switch in Effector T-Cells by Suppressing mTOR Activity. *Front Immunol*. 2019; 10: 883. DOI: <https://www.doi.org/10.3389/fimmu.2019.00883>
15. Lerkvaleekul B., Apiwatanakul N., Klinmalai C., Hongeng S., Vilaiyuk S. Age-related changes in lymphocyte subpopulations in healthy Thai children. *J Clin Lab Anal*. 2020; 34 (5): e23156. DOI: <https://www.doi.org/10.1002/jcla.23156>
16. Liapis K., Tsagarakis N.J., Panitsas F., Taparkou A., Liapis I., Roubakis C., Tsokanas D., Vasileiou P., Grigoriou E., Kakiopoulos G., Psarra K., Farmaki E., Paterakis G. Causes of double-negative T-cell

37. Жирков А.А., Алексеева Л.А., Железникова Г.Ф., Скрипченко Н.В., Монахова Н.Е., Бессонова Т.В. Основные и малые субпопуляции лимфоцитов крови и цереброспинальной жидкости при менингитах у детей. *Инфекция и иммунитет*. 2021; 11 (1): 111–22.

38. Супрун Е.Н. Состояние иммунной системы в различные возрастные периоды. *Аллергология и иммунология в педиатрии*. 2013; (35): 31–6.

lymphocytosis in children and adults. *J Clin Pathol*. 2020; 73 (7): 431–8. DOI: <https://www.doi.org/10.1136/jclinpath-2019-206255>

17. Li H., Adamopoulos I.E., Moulton V.R., Stillman I.E., Herbert Z., Moon J.J., Sharabi A., Krishfield S., Tsokos M.G., Tsokos G.C. Systemic lupus erythematosus favors the generation of IL-17 producing double negative T cells. *Nat Commun*. 2020; 11 (1): 2859. DOI: <https://www.doi.org/10.1038/s41467-020-16636-4>

18. Alexander J.J., Jacob A., Chang A., Quigg R.J., Jarvis J.N. Double negative T cells, a potential biomarker for systemic lupus erythematosus. *Precis Clin Med*. 2020; 3 (1): 34–43. DOI: <https://www.doi.org/10.1093/pcmedi/pbaa001>

19. Brandt D., Hedrich C.M. TCR $\alpha\beta$ ⁺CD3⁺CD4⁺CD8⁺ (double negative) T cells in autoimmunity. *Autoimmunity Reviews*. 2018; 17 (4): 422–30. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.autrev.2018.02.001>

20. Overgaard N.H., Jung J.W., Steptoe R.J., Wells J.W. CD4⁺/CD8⁺ double-positive T cells: more than just a developmental stage? *J Leukoc Biol*. 2015; 97 (1): 31–8. DOI: <https://www.doi.org/10.1189/jlb.1RU0814-382>

21. Bohner P., Chevalier M.F., Cesson V., Rodrigues-Dias S.C., Dartiguenave F., Burrini R., Tawadros T., Valerio M., Lucca I., Nardelli-Haeffiger D., Jichlinski P., Derré L. Double positive CD4⁺CD8⁺ T cells are enriched in urological cancers and favor T helper-2 polarization. *Front Immunol*. 2019; 10: 622. DOI: <https://www.doi.org/10.3389/fimmu.2019.00622>

22. Parrot T., Gorin J.B., Ponzetta A., Maleki K.T., Kammann T., Emgård J., Perez-Potti A., Sekine T., Rivera-Ballesteros O., Karolinska COVID-19 Study Group, Gredmark-Russ S., Rooyackers O., Folkesson E., Eriksson L.I., Norrby-Teglund A., Ljunggren H.G., Björkström N.K., Aleman S., Buggert M., Klingström J., Strålin K., Sandberg J.K. MAIT cell activation and dynamics associated with COVID-19 disease severity. *Sci Immunol*. 2020; 5 (51): eabe1670. DOI: <https://www.doi.org/10.1126/sciimmunol.abe1670>

23. Khaidukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., Totolyan Areg A. Standardized technology «study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorimeters-analyzers» (project). *Medical immunology*. 2012; 14 (3): 255–68. (in Russian)

24. Marchant A., Kollmann T.R. Understanding the ontogeny of the immune system to promote immune-mediated health for life. *Front Immunol*. 2015; 6: 77. DOI: <https://www.doi.org/10.3389/fimmu.2015.00077>

25. Kollmann T.R., Kampmann B., Mazmanian S.K., Marchant A., Levy O. Protecting the newborn and young infant from infectious diseases: lessons from immune ontogeny. *Immunity*. 2017; 46 (3): 350–63. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.immuni.2017.03.009>

26. Semmes E.C., Chen J.-L., Goswami R., Burt T.D., Permar S.R., Fouda G.G. Understanding early-life adaptive immunity to guide interventions for pediatric health front. *Immunol*. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.595297>

27. Parker M.E., Ciofani M. Regulation of $\gamma\delta$ T Cell Effector Diversification in the Thymus. *Front Immunol*. 2020; 11: 42. DOI: <https://www.doi.org/10.3389/fimmu.2020.00042>

28. Fischer M.A., Golovchenko N.B., Edelblum K.L. $\gamma\delta$ T cell migration: Separating trafficking from surveillance behaviors at barrier surfaces. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/imr.12915>

29. Dimova T., Brouwer M., Gosselin F., Tassignon J., Leo O., Donner C., Marchant A., Vermijden D. Effector V γ 9V δ 2 T cells dominate the human fetal $\gamma\delta$ T-cell repertoire. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015; 112 (6): E556–65. DOI: <https://www.doi.org/10.1073/pnas.1412058112>

30. Clark B.L., Thomas P.G. A Cell for the ages: human $\gamma\delta$ T cells across the lifespan. *Int J Mol Sci*. 2020; 21 (23): 8903. DOI: <https://www.doi.org/10.3390/ijms21238903>

31. Xu W., Lau Z.W.X., Fulop T., Larbi A. The Aging of $\gamma\delta$ T Cells. *Cells*. 2020; 9 (5): 1181. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9051181>
32. D'Acquisto F., Crompton T. CD3⁺CD4⁺CD8⁺ (double negative) T cells: saviours or villains of the immune response? *Biochem Pharmacol*. 2011; 82 (4): 333–40. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.bcp.2011.05.019>
33. Ding Y., Zhou L., Xia Yu., Song H., Yang J., Zhao X. Reference values for peripheral blood lymphocyte subsets of healthy children in China. *Journal of allergology and clinical immunology*. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.04.022>
34. Valiathan R., Ashman M., Asthana D. Effects of Ageing on the Immune System: Infants to Elderly. *Scand J Immunol*. 2016; 83 (4): 255–66. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/sji.12413>

35. Khaidukov S.V. Small subpopulations of T-helpers (Th naive thymic, Th naive central, Th9, Th22 and CD4⁺CD8⁺ double positive T cells. *Medical Immunology*. 2013; 15 (6): 503–12. (in Russian)
36. Khaidukov S.V., Baidun L.V. Modern approaches to assessing the cellular component of the immune status. *Medical alphabet*. 2015; 2 (8): 44–51. (in Russian)
37. Zhirkov A.A., Alekseeva L.A., Zheleznikova G.F., Skripchenko N.V., Monakhova N.E., Bessonova T.V. Major and minor subpopulations of blood and cerebrospinal fluid lymphocytes in children with meningitis. *Infection and immunity*. 2021; 11 (1): 111–22. (in Russian)
38. Suprun E.N. The state of the immune system at different age periods. *Allergology and Immunology in Pediatrics*. 2013; 4 (35): 31–6. (in Russian)

Сведения об авторах

Богомяткова Елена Назаровна – асс. каф. гистологии, эмбриологии, цитологии ФГБОУ ВО «ЧГМА» Минздрава России, Чита, Забайкальский край, Российская Федерация
E-mail: vokalist002@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8494-1390>

Солпов Алексей Владимирович – д-р мед. наук, проф. каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО «ЧГМА» Минздрава России, Чита, Забайкальский край, Российская Федерация
E-mail: asolpov1978@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-3509-0301>

Терешков Павел Петрович – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии НИИ молекулярной медицины ФГБОУ ВО «ЧГМА» Минздрава России, Чита, Забайкальский край, Российская Федерация
E-mail: tpp6915@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8601-3499>

Трушина Нина Геннадьевна – врач-педиатр, ГУЗ «Детский клинический медицинский центр г. Читы», поликлиническое подразделение № 4, Чита, Забайкальский край, Российская Федерация
E-mail: trushinang@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8370-6871>

Витковский Юрий Антонович – д-р мед. наук, проф., зав. каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО «ЧГМА» Минздрава России, Чита, Забайкальский край, Российская Федерация
E-mail: yuvitkovsky@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9244-1038>

Authors' information

Yelena N. Bogomyagkova – Assistant of the Histology, Embryology, Cytology Chair of the CSMA, MOH of Russia, Chita, Trans-Baikal Territory, Russian Federation
E-mail: vokalist002@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8494-1390>

Aleksey V. Solpov – MD, PhD, Prof. of the Normal Physiology Chair of the CSMA, MOH of Russia, Chita, Trans-Baikal Territory, Russian Federation
E-mail: asolpov1978@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-3509-0301>

Pavel P. Tereshkov – PhD, Leader Researcher of the Experimental and Clinical Biochemistry and Immunology Lab., Res. Inst. of Molecular Medicine, CSMA, MOH of Russia, Chita, Trans-Baikal Territory, Russian Federation
E-mail: tpp6915@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8601-3499>

Nina G. Trushina – Pediatrician, State Healthcare Institution «Children's Clinical Medical Center of Chita», Outpatient Unit No. 4, Chita, Trans-Baikal Territory, Russian Federation
E-mail: trushinang@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8370-6871>

Yuriy A. Vitkovskiy – MD, Prof., Head of the Normal Physiology Chair of the CSMA, MOH of Russia, Chita, Trans-Baikal Territory, Russian Federation
E-mail: yuvitkovsky@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9244-1038>