

Особенности врожденного и адаптивного иммунитета недоношенных детей с тяжелым гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы

Л.С. Устьянцева, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, С.Ю. Захарова, К.П. Шамова, С.В. Бычкова

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

Features of innate and adaptive immunity in preterm infants with hypoxic-ischemic lesions of the central nervous system

L.S. Ust'janceva, G.N. Chistjakova, I.I. Remizova, S.Yu. Zaharova, K.P. Shamova, S.V. Bychkova

Ural Research Institute of Maternity and Infancy Welfare, Ministry Health of the Russian Federation, Ekaterinburg

С целью оценки клинической адаптации и иммунологических показателей у детей с тяжелым гипоксически-ишемическим поражением ЦНС проведено обследование глубоконедоношенных новорожденных с экстремально низкой массой тела, родившихся в сроке сверхранних (1-я группа, $n=26$) и ранних преждевременных родов (2-я группа, $n=16$). Группу сравнения составили 15 доношенных новорожденных с неосложненным течением раннего периода адаптации, родившихся от условно здоровых женщин. Установлено, что состояние иммунной системы недоношенных детей при рождении вне зависимости от массы тела и гестационного возраста характеризуется снижением абсолютного количества лейкоцитов, повышением процентного содержания лимфоцитов и численности NK-клеток, а также преобладанием Th1-зависимого иммунного ответа (повышение уровня интерферона- γ на фоне снижения продукции интерлейкинов-1 β и -4). Особенностью иммунного ответа новорожденных с экстремально низкой массой тела является нарушение кооперации между клетками врожденного и адаптивного иммунитета, которое проявляется снижением процентного содержания регуляторных CD4+ клеток, ассоциированным с угнетением функциональной активности Т-лимфоцитов (CD4+CD25+) и моноцитов (CD14+HLA-DR+). Снижение количества циркулирующего в крови ферритина свидетельствует о предрасположенности глубоконедоношенных детей к вирусным и бактериальным инфекциям.

Ключевые слова: недоношенные дети, показатели иммунитета, пуповинная кровь, гипоксически-ишемическое поражение центральной нервной системы.

Для цитирования: Устьянцева Л.С., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Захарова С.Ю., Шамова К.П., Бычкова С.В. Особенности врожденного и адаптивного иммунитета недоношенных детей с тяжелым гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы. Рос вестн перинатол и педиатр 2017; 62:(3): 59–65. DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-3-59-65

For abstract to evaluate the clinical adaptation and immunological parameters in infants with severe hypoxic-ischemic lesions of the central nervous system, we examined small premature, extremely low birth weight (ELBW) infants with gestational age (GA) of 24 to 27,6 and infants with gestational age of 28 to 31 weeks (group 1, $n=26$ and group 2, $n=16$). The control group consisted of 15 full-term babies with uncomplicated early period of adaptation, born from apparently healthy women. The immune system of preterm infants at birth, regardless of their gestational age and birth weight, is characterized by decrease of the absolute number of white blood cells, increase of the percentage of lymphocytes and the number of NK-cells, as well as the prevalence of Th1-dependent immune response (increased level of γ -interferon against decrease in levels of interleukine – 1 β and interleukine – 4). A specific feature of the immune response of extremely low birth weight infants is abnormal interaction between innate immunity cells and adaptive immunity cells, which is manifested in reduction of the percentage of regulatory CD4+ cells associated with inhibition of the functional activity of T-cells (CD4+CD25+) and monocytes (CD14+HLA-DR+). The decrease in the number of circulating ferritin levels indicates a predisposition of extremely premature infants to viral and bacterial infections.

Key words: premature infants, immunological parameters, umbilical cord blood, hypoxic-ischemic lesions of the central nervous system.

For citation: Ust'janceva L.S., Chistjakova G.N., Remizova I.I., Zaharova S.Yu., Shamova K.P., Bychkova S.V. Features of innate and adaptive immunity in preterm infants with hypoxic-ischemic lesions of the central nervous system. Ros Vestn Perinatol i Pediatr 2017; 62:(3): 59–65 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-3-59-65

Проблема недоношенности является одной из важнейших в неонатологии и педиатрии в целом. В России частота рождения недоношенных детей колеблется от 4 до 16 %, при этом с низкой массой тела (менее 2500 г) — от 0,2 до 0,3%, с очень

низкой (менее 1500 г) — от 0,13 до 0,48% и с экстремально низкой массой тела (менее 1000 г) составляет 0,3% [1]. Перинатальное поражение ЦНС гипоксического генеза занимает одно из ведущих мест среди неврологических заболеваний у новорожденных.

© Коллектив авторов, 2017

Адрес для корреспонденции: Устьянцева Людмила Станиславовна — научн. сотр. отделения физиологии и патологии новорожденных и детей раннего возраста Уральского НИИ материнства и младенчества
Liudmilaangolt@rambler.ru

Чистякова Гузель Нуховна — д.м.н., проф., рук. научного отделения иммунологии и микробиологии Уральского НИИ материнства и младенчества
Ремизова Ирина Ивановна — к.б.н., ст. научн. сотр. научного отделения иммунологии и микробиологии Уральского НИИ материнства и младенчества

Захарова Светлана Юрьевна — д.м.н., проф., вед. научн. сотр. отделения физиологии и патологии новорожденных и недоношенных детей Уральского НИИ материнства и младенчества

Шамова Ксения Павловна — заочный аспирант Уральского НИИ материнства и младенчества

Бычкова Светлана Владимировна — к.м.н., рук. симуляционного центра, и.о. ученого секретаря Уральского НИИ материнства и младенчества
620028 Екатеринбург, ул. Репина, д. 1

Гипоксия негативно воздействует на развивающийся головной мозг ребенка, провоцируя возникновение гипоксически-ишемической энцефалопатии, которая определяет высокую летальность в неонатальном периоде, приводит к развитию неврологических осложнений и ухудшает дальнейший прогноз и качество жизни ребенка. В Российской Федерации формирование тяжелой психоневрологической патологии у глубоко недоношенных детей представлено в широком диапазоне: от 12 до 50% [2]. Частота эмоционального и неврологического дефицита в долгосрочном прогнозе у данной категории детей может достигать 100% [3].

В последние годы все большее внимание исследователей уделяется вопросам взаимосвязи иммунной и нервной систем, так как ответ на повреждающий фактор может носить как защитный, так и патологический характер [4, 5]. Степень зрелости морфологического субстрата иммунитета недоношенных детей к моменту рождения зависит от гестационного возраста ребенка, антигенной нагрузки, патологических воздействий, которым подвергается плод при осложненном течении беременности, и нарушения иммунологической взаимосвязи в системе мать—плод—новорожденный [6–8]. Хроническая внутриутробная гипоксия приводит к снижению активности как клеточного, так и гуморального иммунитета в связи с блокадой ферментов, ответственных за синтез тимозина — гормона, принимающего активное участие в управлении иммунными реакциями. У детей, родившихся в тяжелой асфиксии, в первую неделю жизни имеется выраженное угнетение Т- и В-лимфоидных систем с уменьшением числа соответствующих лимфоцитов в крови, снижение лимфокинсинтезирующей способности лимфоцитов и количества их активных форм, снижение уровня иммуноглобулинов Ig класса G при повышении концентрации в сыворотке крови IgM и IgA.

Иммунная система состоит из двух компонентов: врожденного и приобретенного, взаимодействующих между собой. Механизмы врожденного иммунитета, к которым относят систему цитокинов, осуществляющую межклеточное взаимодействие между врожденными и приобретенными компонентами иммунобиологического контроля, обеспечивают элиминацию патогенов и предотвращение инфекции на самых ранних этапах, к которой наиболее восприимчивы дети, перенесшие гипоксию [9–11].

Данные, полученные при изучении популяционного состава лимфоцитов пуповинной крови недоношенных детей с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС, весьма противоречивы. Одни авторы указывают на большое количество «наивных» Т-лимфоцитов и малое количество клеток памяти при повышенном содержании В-лимфоцитов [7, 12, 13]; другие — на снижение отно-

сительного числа Т-клеток, CD4+ лимфоцитов, соотношения CD4/CD8 популяций и повышение количества натуральных киллеров (NK) по сравнению с показателями у доношенных новорожденных [14]. Некоторыми авторами показано, что у детей, рожденных в сроке ранних преждевременных родов, отмечается интенсивный сдвиг показателей в сторону увеличения количества CD4+, CD8+ лимфоцитов, CD25+ и CD95+ клеток, изменение цитокинового баланса [8].

Целью настоящего исследования явилось изучение клинических и иммунологических особенностей недоношенных детей с тяжелым гипоксически-ишемическим поражением ЦНС.

Характеристика детей и методы исследования

Для достижения поставленной цели исследовали образцы пуповинной крови 42 недоношенных новорожденных с тяжелым гипоксически-ишемическим поражением ЦНС, родившихся на сроках гестации 24–27,6 и 28–31 нед (1-я и 2-я основные группы). Группу сравнения составили 15 новорожденных детей с неосложненным течением раннего периода адаптации, родившихся от условно здоровых женщин (3-я группа). Роды проходили на базе научных и клинических подразделений Научно-исследовательского института охраны материнства и младенчества (Екатеринбург).

Проведен клинико-статистический анализ 57 обменных карт и историй родов женщин, 57 историй болезни новорожденных детей разного срока гестации. Критерий включения в основные группы: недоношенные дети с тяжелым гипоксически-ишемическим поражением ЦНС.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом. От всех женщин получено письменное информированное согласие на участие в исследовании и использование биологических материалов ребенка в научных целях.

Состояние детей при рождении оценивалось по шкале Апгар, антропометрическим показателям (масса тела, длина), параметрам газового гомеостаза. Проводился анализ структуры заболеваемости путем рентгенологического исследования легких при помощи рентгенологического аппарата TMX R⁺ (США), нейросонографического исследования головного мозга по стандартным методикам с использованием ультразвукового сканера «PHILIPS HD 15» (США). Анализ эхограммы включал в себя оценку состояния паренхимы головного мозга, желудочковой системы, цистерн и субарахноидального пространства, выраженности извилин, наличия кровоизлияний, кист. Степень поражения ЦНС оценивалась по ультразвуковой картине согласно классификации перинатальных поражений ЦНС Российской ассоциации специалистов перинатальной медицины (РАСПМ) [15].

Иммунофенотипирование лимфоцитов осуществляли методом проточной лазерной цитофлуорометрии на анализаторе «FACS Calibur» фирмы «Becton Dickinson» (США) с использованием наборов моноклональных антител того же производителя, конъюгированных с флюоресцеинизотиоцианатом и фикоэритрином. Определяли количество лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16/56). Оценивали уровень экспрессии рецепторов, отражающих степень зрелости клеток (CD45RO+, CD45RA+), а также маркеров активации моноцитов (CD14+HLA-DR+, CD14+CD71+) и лимфоцитов (CD4+CD25+) пуповинной крови. Содержание интерлейкинов (IL) -1b, -8, -4, интерферона- γ (IFN- γ) и ферритина определяли с помощью коммерческих тест-систем «Вектор-Бест» (Россия). Уровень медиаторов межклеточного взаимодействия в сыворотке крови оценивали методом иммуноферментного анализа в соответствии с рекомендациями производителей наборов. Детекцию проводили на иммуноферментных анализаторах «Multiskan MCC/340» фирмы Labsystems (Финляндия).

Статистическую обработку результатов исследований выполняли с использованием пакетов прикладных программ Excel и Statistica 6. Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное значение и относительную величину в процентах, проверку статистических гипотез о совпадении наблюдаемых и ожидаемых частот осуществляли с использованием точного критерия Фишера. В случае подчинения распределения признака закону нормального распределения данные представляли в виде средней величины (M) и стандартного отклонения (δ). В том случае, когда нулевая гипотеза о соответствии распределения признака закону нормального распределения отвергалась и принималась альтернативная, данные представляли в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го перцентилей, P_{25} и P_{75}). Критический уровень значимости различий (p), при котором нулевая гипотеза об отсутствии различий отвергалась и принималась альтернативная, устанавливали равным 0,017 (при попарном сопоставлении основных групп с группой сравнения).

Результаты и обсуждение

Женщины, родившие недоношенных новорожденных основных групп, были сопоставимы по возрасту, экстрагенитальной патологии, акушерско-гинекологическому анамнезу, способу родоразрешения. Гестационный возраст детей обследованных групп к моменту рождения составил $26,38 \pm 0,89$, $29,75 \pm 0,68$ и $39,4 \pm 0,82$ нед соответственно. Масса тела новорожденных с экстремально низкой массой тела — $840,15 \pm 102,01$ и $864,25 \pm 126,3$ г, длина тела — $31,92 \pm 2,59$ и $32,93 \pm 3,43$ см соответственно ($p_{1-3, 2-3} < 0,001$ в обоих случаях). Антропометрические

данные доношенных новорожденных — масса тела $3552 \pm 502,61$ г, длина $52 \pm 2,17$ см. Согласно таблице Fenton (2013), в 38,5 и 100% случаев у детей основных групп был отмечен синдром задержки развития ($p_{1-2, 2-3, 1-3} < 0,017$). Оценка по шкале Апгар (на 1-й и 5-й минутах жизни у детей с гестационным возрастом 22–27,6 нед была достоверно ниже аналогичных показателей у детей большего гестационного возраста ($4,19 \pm 1,1$ и $5,92 \pm 0,68$ балла против $4,73 \pm 0,79$ и $6,53 \pm 0,64$ балла во 2-й группе, $7 \pm 0,65$ и $8 \pm 0,45$ балла в 3-й группе; $p_{1-2, 1-3} = 0,008$).

В большинстве случаев недоношенные новорожденные с экстремально низкой массой тела родились в тяжелом состоянии (69,2 и 100% случаев в 1-й и 2-й группах соответственно; $p_{1-2, 2-3, 1-3} \leq 0,008$). Тяжесть состояния была обусловлена синдромом дыхательных расстройств, неврологической симптоматикой, угрозой реализации внутриутробной инфекции, недоношенностью. Все дети основных групп находились на специальном охранительном режиме выхаживания с использованием кувезов, оксигенотерапии, парентерального питания, расчета вводимой жидкости, зондового вскармливания, ограничением инвазивных манипуляций.

Исследования кислотно-щелочного состояния при рождении установили, что показатель pO_2 крови у всех недоношенных новорожденных был снижен ($51,73 \pm 9,31$, $57,2 \pm 13,1$ мм рт.ст.; $p_{1-2} = 0,028$), что является одной из причин гипоксического поражения головного мозга, при этом у детей меньшего гестационного возраста отмечалось более выраженное снижение pO_2 .

По результатам нейросонографии в первые сутки жизни дети 1-й и 2-й групп имели тяжелую церебральную ишемию, что согласуется с данными ряда авторов [2, 4]. По сведениям литературы, дети с экстремально низкой массой тела различных сроков гестации подвержены развитию пери- и/или интравентрикулярных кровоизлияний, происходящих из сосудистых сплетений желудочков мозга и богато кровоснабженного герминативного матрикса в связи с широкими просветами его сосудов, которые не имеют базальной мембраны и мышечных волокон, что способствует повышенной ранимости [1, 17]. Внутрижелудочковые кровоизлияния различной степени выявлялись достоверно чаще у детей, родившихся в сроке сверхранних преждевременных родов (табл. 1).

В структуре заболеваемости у всех недоношенных детей преобладала сочетанная патология. Респираторный дистресс-синдром, развившийся вследствие количественного дефицита сурфактанта, выявлялся чаще у детей основных групп (см. табл. 1). Значимых различий между новорожденными различного гестационного возраста по частоте встречаемости респираторного дистресс-синдрома выявлено не было. Все глубоконедоношенные дети в раннем неонатальном

периоде нуждались в респираторной терапии. На искусственной вентиляции легких (ИВЛ) с рождения находились 88,5 и 37,5% детей с экстремально низкой массой тела ($p_{1-2} < 0,008$). Дыхательная поддержка методом BNCРАР с рождения проводилась у 11,5 и 62,5% новорожденных 1-й и 2-й основных групп соответственно ($p_{1-2} < 0,008$).

У детей 24–27,6 нед гестационного возраста с тяжелым гипоксически-ишемическим поражением ЦНС была зарегистрирована высокая частота инфекционно-воспалительной патологии относительно показателей у недоношенных большего гестационного возраста и доношенных новорожденных (80,1% против 37,5% в основных группах; $p_{1-2} < 0,017$). Пневмония различной локализации, подтвержденная рентгенологически, выявлялась чаще у детей 1-й группы по сравнению с недоношенными 2-й группы. Развитие пневмоний у детей с меньшим гестационным возрастом связано с несовершенством центральной регуляции дыхания, незрелостью легочной ткани, недостаточной бактерицидной активностью сурфактанта, что обуславливает повышенную восприимчивость недоношенных детей к возбудителям инфекций [16]. Сепсис диагностировался только у детей с экстремально низкой массой тела (19,2 и 6,25% случаев).

Исследования пуповинной крови показали (табл.2), что у всех недоношенных детей при сниженном абсолютном количестве лейкоцитов имело место повышение процентного содержания лимфоцитов ($p_{1-3, 2-3} \leq 0,017$) и увеличение численности NK-клеток ($p_{1-3, 2-3} < 0,010$). У новорожденных 1-й и 2-й групп отмечалось уменьшение процентного содержания регуляторных CD4+ лимфоцитов и Т-цитотоксических клеток (CD8+), наиболее выраженное в возрасте гестации 24–27,6 нед ($p_{1-3, 1-2, 2-3} < 0,08$ и $p_{1-3} < 0,010$).

Значение иммунорегуляторного индекса у недоношенных и доношенных детей было смещено в сторону Т-хелперного иммунного ответа, достоверных различий между группами не выявлено. У новорожденных с гестационным возрастом 24–27,6 нед абсолютное количество наивных Т-лимфоцитов было снижено на уровне тенденции.

Наиболее важным результатом активации клеток является экспрессия генов факторов роста и их рецепторов. Формирование высокоаффинного рецептора для IL-2 на поверхности Т-клеток (CD25+) происходит через сутки после действия стимулирующего агента в результате экспрессии гена CD25+ [18]. Необходимо отметить статистически значимое уменьшение количества регуляторных клеток, экспрессирующих IL-2R (CD25+), у новорожденных 1-й группы относительно показателей группы сравнения, что свидетельствует о снижении процессов ранней активации клеток (табл.3).

Запуск иммунного ответа (активация Т-лимфоцита к пролиферации и дифференцировке) осуществляется при сочетанном взаимодействии некоторых молекул на поверхности Т-лимфоцита с рядом комплементарных молекул на поверхности макрофага с образованием супрамолекулярных агрегатов. Выявленная нами низкая экспрессия HLA-DR на моноцитах пуповинной крови у детей, рожденных в сроке сверхранних преждевременных родов, указывает на неэффективное межклеточное взаимодействие между клетками адаптивного и врожденного иммунитета, следствием чего является снижение продукции медиаторов в ответ на антигенную стимуляцию и повышение риска развития респираторного дистресс-синдрома, что согласуется с данными литературы [19].

Таблица 1. Структура заболеваемости детей за период пребывания в стационаре

Table 1. The structure of child morbidity for the period of stay in hospital

Показатель	1-я группа (дети с ЭНМТ, ГВ 24–27,6 нед, n=26)		2-я группа (дети с ЭНМТ, ГВ 28–31 нед, n=16)		3-я группа (доношенные, n=15)		Уровень значимости между группами, p
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Респираторный дистресс-синдром	14	58,3	12	75	0	0	$p_{1-3, 2-3} < 0,005$
Церебральная ишемия III степени:	26	100	16	100	0	0	$p_{1-3, 2-3} < 0,0001$
ВЖК I степени	7	26,9	2	12,5	0	0	$p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$
ВЖК II степени	3	11,5	0	0	0	0	$p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$
ВЖК III степени	1	3,9	1	6,25	0	0	$p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$
Сепсис	5	19,2	1	6,25	0	0	$p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$
Пневмония	12	46,2	4	25	0	0	$p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$
Врожденная анемия	9	34,6	1	6,25	0	0	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3, 2-3} > 0,05$

Примечание. ЭНМТ – экстремально низкая масса тела; ГВ – гестационный возраст; ВЖК – внутрижелудочковое кровоизлияние.

Одной из причин, ухудшающих состояние детей с экстремально низкой массой тела, является анемия, а повторные гемотрансфузии — неотъемлемый компонент традиционной терапии этого контингента новорожденных [14]. У детей с экстремально низкой массой тела с тяжелым поражением ЦНС, родившихся в сроке сверхранных преждевременных родов, в 5,5 раза чаще была диагностирована врожденная анемия по сравнению с другой исследуемой группой

(34,6% против 6,25%; $p_{1-2} < 0,05$). Этиология и патогенез ранней анемии недоношенных детей определяются главным образом физиологическими и биохимическими особенностями эритропоэза и его регуляции, а также гестационным возрастом ребенка, поскольку наиболее значимые изменения гемопоэза происходят в последние 3 мес гестации [20]. Проведенные исследования показали, что врожденная анемия наблюдалась достоверно чаще у детей с экстре-

Таблица 2. Показатели клеточного звена иммунитета пуповинной крови недоношенных новорожденных, Ме (P25–P75)
Table 2. Indicators of cell immunity cord blood of preterm infants, Me (P25–P75)

Показатель	1-я группа (n=26)	2-я группа (n=16)	3-я группа (n=15)	Уровень значимости между группами, p
Лейкоциты · 10 ⁹ /л	5,7 (4,95–6,02)	5,7 (4,9–6,1)	12,55 (9,42–15,86)	$p_{1-3, 2-3} = 0,0001$
Лимфоциты: % · 10 ⁹ /л	66,5 (56,75–73,0) 4,18 (3,08–4,75)	66,0 (63,0–69,0) 3,39 (2,96–4,22)	32,0 (29,0–41,25) 4,18 (3,41–5,01)	$p_{1-3, 2-3} = 0,0001$ $p_{2-3} = 0,08$
CD3+: % · 10 ⁹ /л	28,0 (13,0–47,0) 1,3 (0,69–1,57)	42,0 (13,0–43,0) 1,46 (1,22–1,62)	39,0 (28,25–54,5) 1,45 (1,04–5,13)	
CD19+: % · 10 ⁹ /л	10,0 (4,75–15,5) 0,41 (0,20–0,99)	14,0 (2,0–19,0) 0,63 (0,31–0,88)	9,0 (4,75–15,0) 0,30 (0,18–0,60)	$p_{2-3} = 0,03$
CD4+: % · 10 ⁹ /л	14,0 (10,0–18,75) 0,67 (0,5–1,03)	25,0 (15,0–34,0) 1,13 (0,92–2,14)	31,5 (23,5–40,0) 1,2 (0,77–1,68)	$p_{1-3} = 0,00002$ $p_{2-3} = 0,006$ $p_{1-2} = 0,008$ $p_{1-3} = 0,0004$
CD8+: % · 10 ⁹ /л	7,0 (4,0–12,0) 0,33 (0,29–0,39)	9,0 (8,0–13,0) 0,34 (0,3–0,57)	12,0 (7,5–17,5) 0,44 (0,32–0,60)	$p_{1-3} = 0,028$ $p_{1-3} = 0,05$
CD3-CD16+/56+: % · 10 ⁹ /л	7,0 (5,5–14,0) 0,34 (0,22–0,62)	6,0 (6,0–12,0) 0,31 (0,24–0,48)	3,5 (1,0–6,0) 0,13 (0,08–0,23)	$p_{1-3} = 0,0026$ $p_{2-3} = 0,017$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,002$
CD4/CD8	2,46 (1,45–3,33)	2,5 (1,85–3,78)	2,42 (1,73–3,3)	
CD3CD45RA: % абс.	7,5 (4,0–9,0) 0,33 (0,17–0,81)	10,0 (6,0–17,0) 0,47 (0,37–0,81)	12,0 (7,5–15,0) 0,41 (0,23–0,65)	$p_{1-3} = 0,04$
CD45RO: % абс.	2,0 (2,0–3,0) 0,08 (0,08–0,12)	2,0 (1,0–3,0) 0,14 (0,08–0,18)	3,0 (2,0–5,0) 0,12 (0,07–0,23)	

Таблица 3. Особенности функциональной активности Т-лимфоцитов и моноцитов пуповинной крови недоношенных новорожденных, Ме (P25–P75)

Table 3. Features of the functional activity of T-lymphocytes and monocytes in preterm infants cord blood, Me (P25–P75)

Показатель	1-я группа (n=26)	2-я группа (n=16)	3-я группа (n=15)	Уровень значимости между группами, p
CD4CD25, %	3,0 (2,0–4,0)	3,0 (1,0–4,0)	5,0 (4,0–5,0)	$p_{1-3} = 0,004$
CD14CD71, %	11,5 (4,0–15,75)	21,0 (13,0–24)	14,0 (7,0–18,5)	$p_{1-2} = 0,002$ $p_{2-3} = 0,018$
CD14HLA-DR, %	23,5 (17,5–32,0)	58,0 (16,5–63,0)	56,0 (48,5–67,5)	$p_{1-3} = 0,0001$ $p_{1-2} = 0,03$

Таблица 4. Содержание медиаторов межклеточного взаимодействия пуповинной крови у недоношенных новорожденных, Me (P25–P75)

Table 4. The content of intercellular interaction mediators cord blood of preterm infants, Me (P25–P75)

Показатель	1-я группа (n=26)	2-я группа (n=16)	3-я группа (n=15)	Уровень Значимости между группами, p
IL-1 β , пг/мл	1,59 (0,8–3,18)	1,3 (0,0–4,02)	3,44 (3,21–3,73)	$p_{1-3}=0,0009$ $p_{2-3}=0,017$
IL-8, пг/мл	55,0 (25,9–60,0)	44,75 (25,9–69,31)	14,2 (8,86–17,16)	$p_{1-3, 2-3}=0,0001$
IFN- γ , пг/мл	8,11 (5,5–10,03)	10,85 (9,0–11,0)	1,4 (0,87–1,83)	$p_{1-2}=0,002$ $p_{1-3, 2-3}=0,0001$
IL-4, пг/мл	0,59 (0,42–0,97)	0,57 (0,49–0,69)	3,33 (2,88–3,49)	$p_{1-3, 2-3}=0,0001$
IFN- γ /IL-4 усл.ед.	11,8 (9,3–18,2)	18,0 (16,4–33,02)	0,46 (0,25–0,63)	$p_{1-3, 2-3}=0,0001$
Ферритин, нг/мл	28,56 (22,8–47,3)	29,53 (23,93–65,5)	59,3 (55,4–130,4)	$p_{1-3}=0,0003$ $p_{2-3}=0,0005$

мально низкой массой тела меньшего гестационного возраста, следствием чего было снижение концентрации ферритина в сыворотке пуповинной крови по сравнению с доношенными новорожденными. Рецептор трансферрина (CD71+) является маркером ранней активации, и повышение уровня его экспрессии отмечается на пролиферирующих клетках. У новорожденных 28–31 нед гестационного возраста количество активированных моноцитов было повышено на уровне тенденции ($p_{2-3}=0,018$).

Исследование противовоспалительных цитокинов показало, что у всех недоношенных новорожденных наблюдалось увеличение концентрации IFN- γ , сопряженное со снижением уровня IL-1 β и IL-4 в пуповинной крови (табл.4).

Одно из наиболее существенных свойств IL-1 – стимуляция пролиферации антигенчувствительных Т-лимфоцитов. Сам по себе IL-1 не является фактором роста для Т-лимфоцитов. Механизм его действия заключается в индукции синтеза IL-2 и IL-4 ростовых факторов, секретируемых Т-хелперами. Кроме того, IL-1 усиливает экспрессию рецепторов к IL-2 и IL-4, что создает условия для аутокринной регуляции пролиферации Т-хелперов [21]. Без достаточного уровня продукции IL-1 нарушаются процессы презентации антигена и, как следствие, тормозится запуск иммунного ответа. Особенности цитокинового профиля и экспрессии рецепторов к цитокинам во многом определяют характер формирования иммунитета. Так, снижение уровня IL-1 β у новорожденных с экстремально низкой массой тела было сопряжено с низкой экспрессией рецептора к IL-2 на CD4+ лимфоцитах, а также снижением процентного содержания Т-хелперов, что свидетельствует об угнетении ранних этапов иммунного ответа.

Известно, что IL-8 является мощным провоспалительным фактором, способствующим повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера,

нарастанию отека головного мозга, что, вероятно, предопределяет риск реализации неврологической патологии [22]. Высокие показатели концентрации IL-8 более 95-го процентиля (20,4 пг/мл, граница нормы) отмечались у всех детей с гестационным возрастом 24–27,6 и 28–31 нед, что, по-видимому, связано с тяжелыми неврологическими нарушениями (церебральной ишемией III степени). Ранее нами было показано, что повышенный уровень IL-8 в пуповинной и периферической крови у доношенных новорожденных, перенесших асфиксию, способствует формированию перинатального поражения ЦНС [11]. У детей с легким и среднетяжелым поражением ЦНС гипоксически-ишемического генеза повышенный уровень этого хемокина наблюдался в 38,1% случаев.

Заключение

Проведенные исследования показали, что у детей с экстремально низкой массой тела с тяжелым гипоксически-ишемическим поражением ЦНС при рождении отмечается лейкопения с относительным лимфоцитозом, повышение процентного содержания лимфоцитов и численности NK-клеток, а также снижение продукции IL-1 β , IL-4 и процентного содержания CD4+ клеток на фоне повышения уровня IFN- γ и IL-8 вне зависимости от гестационного возраста.

При этом особенностью иммунного ответа детей, родившихся в сроке сверхранних преждевременных родов, является снижение доли Т-цитотоксических лимфоцитов, уменьшение относительного числа активированных CD14+HLA-DR+ моноцитов и регуляторных CD4+CD25+ клеток, что свидетельствует о нарушении взаимосвязи между клетками врожденного и адаптивного иммунитета на фоне высокой частоты инфекционно-воспалительной патологии (сепсиса, пневмонии).

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Кулаков В.И., Антонов А.Г., Байбарина Е.Н. Проблемы и перспективы выхаживания детей с экстремально низкой массой тела на современном этапе. Рос вестн перинатол и педиатр 2006; 51(4): 8–11. [Kulakov V.I., Antonov A.G., Bajbarina E.N. Problems and perspectives of nursing of children with extremely low body weight at the present stage. Ros vestn perinatol pediat 2006; 51(4): 8–11. (in Russ)]
2. Якорнова Г.В., Краева О.А., Чарипова Б.Т., Занина Е.В. Оценка особенностей перинатального периода у детей с ЭНМТ при рождении у женщин с преодоленным невынашиванием. Рос вестн перинатол и педиатр 2014; 59(6): 52–56. [Jakornova G.V., Kraeva O.A., Charipova B.T., Zanima E.V. Evaluation of the perinatal period in children with ELBW at birth in women with recurrent overcome. Ros vestn perinatol pediat 2014; 59(6): 52–56 (in Russ)]
3. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. Гипоксически-ишемические энцефалопатии новорожденных. Руководство для врачей. СПб, 2006; 224. [Pal'chik A.B., Shabalov N.P. Hypoxic-ischemic encephalopathy in newborns. A guide for physicians. SPb, 2006; 224. (in Russ)]
4. Захарова Л.Н., Краева О.А., Чистякова Г.Н. Определение концентрации нейронспецифических факторов в диагностике органического поражения ЦНС у глубоко недоношенных детей. Рос вестн перинатол и педиатр 2016; 61(2): 50–55. [Zakharova L.N., Kraeva O.A., Chistyakova G.N. Evaluation of neuron-specific factors in the diagnostics of organic CNS damage in extremely preterm infants. Ros vestn perinatol pediat 2016; 61(2): 50–55. (in Russ)]
5. Бугрым Н.В., Ловвинова И.И. Связь иммунного статуса и заболеваемости к году у детей, перенесших тяжелую асфиксию. ВНМТ 2010; 3: 13–15. [Bugrym N.V., Logvinova I.I. Contact immune status and disease to a year in children with severe asphyxia. VNMT 2010; 3: 13–15. (in Russ)]
6. Лебедева О.В. Заболеваемость и смертность детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении: факторы риска и пути снижения. ВНМТ 2015; 2. URL: <http://www.medsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-2/5124.pdf> [Lebedeva O.V. The morbidity and mortality of children with very low and extremely low birth weight infants: risk factors and ways to reduce. VNMT 2015; 2. URL: <http://www.medsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-2/5124.pdf> (in Russ)]
7. Стефани Д.В., Вельтищев Ю.Е. Клиническая иммунология и иммунопатология детского возраста. Руководство для врачей. М: Медицина 1996; 125–166. [Stefani D.V., Veltishchev Yu.E. Clinical immunology and immunopathology of childhood. A guide for physicians. M: Meditsina 1996; 125–166. (in Russ)]
8. Каракушикова А.С., Рахимова К.В., Абдуллаева Г.М. Особенности иммунного статуса недоношенных детей с перинатальной патологией в раннем неонатальном периоде. Педиатрия 2012; 91(1): 21–25. [Karakushikova A.S., Rahimova K.V., Abdullaeva G.M. Features of the immune status of preterm infants with perinatal pathology in the early neonatal period. Pediatrija 2012; 91(1): 21–25. (in Russ)]
9. Александрова Ю.Н. Роль системы цитокинов в патологии перинатального периода. Педиатрия 2007; 86(1): 116–118. [Aleksandrova Yu.N. The role of cytokines in the pathology of the perinatal period. Pediatrija 2007; 86: 1: 116–118 (in Russ)]
10. Литвицкий П.Ф., Синельникова Т.Г. Врожденный иммунитет: механизмы реализации и патологические синдромы. Вopr соврем педиатр 2009; 8(4): 95–102. [Litvickij P.F., Sinel'nikova T.G. Innate immunity: mechanisms of implementation and pathological syndromes. Vopr sovrem pediat 2009; 8(4): 95–102. (in Russ)]
11. Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Газиева И.А., Бычкова С.В., Занина Е.В., Чарипова Б.Т. Про- и противовоспалительные медиаторы у новорожденных с перинатальной патологией. Рос вестн перинатол и педиатр 2014; 59(2): 66–70. [Chistyakova G.N., Remizova I.I., Gazieva I.A., Bychkova S.V., Zanima E.V., Charipova B.T. Pro- and anti-inflammatory mediators in newborns with perinatal pathology. Ros vestn perinatol pediat 2014; 59(2): 66–70. (in Russ)]
12. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека. Мед акад журн 2013; 13(3): 18–41. (Simbircev A.S. Cytokines in the pathogenesis of infectious and non-infectious diseases in humans. Med akad zhurn 2013; 13(3): 18–41. (in Russ)]
13. Gäbler J., Arnold J., Kyewski B. Promiscuous gene expression and the developmental dynamics of medullary thymic epithelial cells. Eur J Immunol 2007; 12: 3363–3372.
14. Сенькевич О.А., Сметанина Е.А., Йилг А.Н. Выбор терапевтической тактики при ранней анемии недоношенных у детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении: результаты ретроспективного исследования. Педиатр фармакол 2016; 13(1): 33–37. [Sen'kevich O.A., Smetanina E.A., Yilg A.N. Selection of therapeutic tactics for early anemia of premature infants with very low or extremely low birth weight: retrospective study results. Pediat farmakol 2016; 13(1): 33–37. (in Russ)]
15. Российская ассоциация специалистов перинатальной медицины. Классификация перинатальных поражений нервной системы у новорожденных. Методические рекомендации. М, 2000; 40. [Russian Association of Perinatal Medicine Specialists Classification of perinatal lesions of the nervous system in newborns. Guidelines. Moscow, 2000; 40. (in Russ)]
16. Володин Н.Н. Неонатология. Национальное руководство. М: ГЭОТАР-Медиа 2009; 283. [Volodin N.N. Neonatology. National guidelines. Moscow: GEHOTAR-Media, 2009; 283. (in Russ)]
17. Шабалов Н.П. Неонатология. Руководство для врачей в 2 т. М: МЕДпресс-информ 2004; 1–2: 640. [Shabalov N.P. Neonatology. A guide for physicians. Moscow: MEDpress-inform 2004; 1–2: 640. (in Russ.)]
18. Хаитов Р.М. Иммунология. + CD. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006; 320. [Haitov R.M. Immunology. + CD. Moscow: GEHOTAR-MEDIA, 2006; 320. (in Russ)]
19. Prince L.R., Maxwell N.C., Gill S.K., Dockrell D.H. Macrophage Phenotype Is Associated with Disease Severity in Preterm Infants with Chronic Lung Disease. PLoS ONE 2014; 9(8): e103059.
20. Сергеева А.И., Левина А.А., Мамукова Ю.И., Горячкина Л.А., Родионов В.А., Казюкова Т.В. Показатели феррокинезики и состояния эритропоэза при ранней анемии недоношенных детей. Педиатрия 2006; 1: 26–31. [Sergeeva A.I., Levina A.A., Mamukova Yu.I., Gorjachkina L.A., Rodionov V.A., Kazjukova T.V. Indicators and status ferrokinetiki erythropoiesis anemia with early preterm infants. Pediatrija 2006; 1: 26–31. (in Russ)]
21. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб: Фолиант 2008; 552. [Ketlinskij S.A., Simbircev A.S. Cytokines. SPb: Foliant 2008; 552. (in Russ)]
22. Сотникова Н.Ю., Чаша Т.В., Кудряшева А.В., Полумискова Е.В. Иммунологические проблемы у новорожденных с перинатальными поражениями центральной нервной системы. г. Иваново 2010; 240. [Sotnikova N.Yu., Chasha T.V., Kudrjasheva A.V., Polumiskova E.V. Immunological problems in newborns with perinatal lesions of the central nervous system. Ivanovo 2010; 240. (in Russ)]

Поступила 12.03.17

Received on 2017.03.12

Конфликт интересов:

Авторы не имеют финансирования представленной работы, а также конфликта интересов, включая гранты, гонорары за лекции и консультации и другие возможные формы.

Conflict of interest:

The authors do not have the funding of the presented work, as well as conflicts of interest, including grants, fees for lectures and consultations and other possible forms.