

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.24-053.32-07:577.1

*Шилова Н.А., Чаша Т.В., Малышкина А.И., Родина М.А., Попова И.Г.***СОДЕРЖАНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА КАТЕЛИЦИДИНА У ГЛУБОКОНЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИЕЙ**

Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Минздрава России, 153045, г. Иваново, ул. Победы, 20

Представлены данные исследований содержания кателицидина LL37 у 61 ребенка с врожденной пневмонией, гестационный возраст детей составил 24–31 нед. Установлено, что исход заболевания связан с изменениями содержания этого антимикробного пептида в фарингеальном аспирате в 1–2-е сутки жизни. У выживших от пневмонии новорожденных детей концентрации кателицидина LL37 были существенно большими, чем у умерших детей.

Ключевые слова: *глубоконедоношенные новорожденные; врожденная пневмония; кателицидин LL37.*

*Shilova N. A., Chasha T. V., Malyschkina A. I., Rodina M. A., Popova I. G.***THE CONTENT OF THE ANTIMICROBIAL PEPTIDE CATHELICIDIN LL37 IN VERY PRETERM NEWBORNS WITH CONGENITAL PNEUMONIA**

Ivanovo Scientific Research Institute of Maternity and Childhood named after V.N. Gorodkov, 20, Pobedy Str., Ivanovo, Russian Federation, 153045

There are presented the data of the studies of the content of cathelicidin LL37 in 61 children with congenital pneumonia, gestational age of children was 24–31 week. The outcome of the disease was established to be related with the changes in the content of this peptide in the pharyngeal aspirate on the 1st–2nd day of life. In surviving newborns suffered from pneumonia the concentrations of cathelicidin LL 37 were significantly higher than in nonsurviving children.

Key words: *very preterm newborns; congenital pneumonia; cathelicidin LL37.*

Тлубокая недоношенность является фактором риска развития различных осложнений пневмонии, что связано с физиологической незрелостью органов и систем (особенно дыхательной и иммунной) и вызывает высокую летальность при этом заболевании [1–5]. Несмотря на улучшение технологий выхаживания детей различного гестационного возраста, оптимизацию антибактериальной терапии, уровень заболеваемости и смертности новорожденных детей от врожденной пневмонии продолжает оставаться высоким [1–3].

В настоящее время доказана роль генетически детерминированного иммунного ответа в защите ребенка от инфекционно-воспалительных заболеваний. Неотъемлемой частью врожденного иммунитета человека являются антимикробные пептиды, которые выступают в качестве эндогенных антибиотиков, представителем которых является кателицидин LL37 [6, 7]. Установлено, что этот пептид проявляет антиинфекционную активность против грамотрицательных и грамположительных бактерий, грибов, некоторых вирусов и простейших [8, 9].

В связи с этим нами были изучены изменения содержания антимикробного пептида кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате у глубоконедоношенных детей с различными исходами врожденной пневмонии.

**Материалы и методы**

Проведено комплексное обследование 61 недоношенного ребенка со сроком гестации 24–31 нед, с клинико-лабораторными признаками врожденной пневмонии. В зависимости от исходов пневмонии все обследованные дети были распределены на 2 клинические группы: 1-я – 49 детей, выздоровевших от врожденной пневмонии, 2-я – 12 детей, умерших от врожденной пневмонии. В 1-й группе 23 ребенка родились с очень низкой массой тела (ОНМТ) ( $1278,9 \pm 106,4$  г), а 26 (53,1%) детей этой группы родились с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) ( $889,8 \pm 99,5$  г). Во 2-й группе было 10 детей с ЭНМТ ( $867,8 \pm 114,9$  г) и только 2 ребенка этой группы родились с ОНМТ ( $1225 \pm 218,1$  г).

Материалом для биохимического исследования служили фарингеальные аспираты (забор осуществлялся однократно на 1–2-й день жизни). Содержание кателицидина (в нг/мл) определяли иммуноферментным методом с помощью реактивов фирмы Hycult biotech (Нидерланды) на автоматическом анализаторе ELx808 фирмы Bio-Tek Instruments (США).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы Microsoft Excel 2003, версия 7,0; Statistica 6.1. Анализ и описание данных проводились с учетом ненормального распределения признака. Определялись медиана (Me) и интерквартильные размеры – UQ-LQ (25–75% процентиля). Уровень значимости различий между средними величинами определялся по критериям Манна–Уитни, Колмогорова–Смирнова, Вальда–Вольфовица. Для определения связи между изученными показателями

Для корреспонденции: *Шилова Наталья Александровна*, канд. мед. наук, науч. сотр. отдела неонатологии и клинической неврологии детского возраста, врач-неонатолог детского физиологического отделения, e-mail: shilova37@gmail.com

проводился корреляционный анализ с определением коэффициента корреляции Спирмена.

### Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что в анамнезе матерей в большинстве случаев были выявлены различные формы инфекционно-воспалительной патологии разной этиологии: у 36% беременных болезни мочевыделительной системы (хронический пиелонефрит, цистит), у 41% – кольпит, аднексит, эндометрит; каждая третья женщина перенесла ОРВИ в I–II триместрах данной беременности. Репродуктивный анамнез матерей был отягощен искусственными медицинскими абортами, самопроизвольными выкидышами, бесплодием, преждевременными родами, перинатальными потерями, внематочной или погибшей беременностью.

Матери большинства новорожденных 1-й группы прошли профилактику РДС кортикостероидами (84,8%), тогда как в группе умерших от пневмонии детей число матерей, получивших антенатальную профилактику РДС, было ниже (66,7%). Среди причин отсутствия антенатальной профилактики РДС кортикостероидами в обеих группах были: преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, декомпенсация хронической плацентарной недостаточности, как следствие острая гипоксия плода, тяжелые формы гестоза, потребовавшие экстренного родоразрешения.

Всем обследованным новорожденным при рождении проводились первичные реанимационные мероприятия в родильном зале в соответствии с методическими письмами Минздрава России “Первичная и реанимационная помощь новорожденным детям” (№ 15-4/10/23204 от 21 апреля 2010 г.) и “Интенсивная терапия и принципы выхаживания детей с экстремально низкой и очень низкой массой тела при рождении” (№15-0/10/2-11336 от 16.11.11).

Всем детям проводилось лечение препаратом экзогенного сурфактанта “Куросурф”. В группе выздоровевших новорожденных в 89,2% случаев было достаточно однократного введения сурфактанта для достижения положительного клинического эффекта. В группе умерших детей в 33,3% случаев потребовалось повторное введение препаратов экзогенного сурфактанта в связи с отсутствием положительной динамики и нарастанием тяжести дыхательной недостаточности ( $p < 0,05$ ).

Всем новорожденным проводилась респираторная терапия дыхательной недостаточности. Выбор стартового метода респираторной поддержки зависел от тяжести дыхательных нарушений и гестационного возраста.

Выздоровевшие от врожденной пневмонии новорожденные потребовали проведения традиционной искусственной вентиляции легких (ИВЛ) в качестве стартового метода респираторной поддержки в 70,3% случаев, тогда как в группе умерших детей необходимость проведения ИВЛ через интубационную трубку составила 100% ( $p > 0,05$ ). Высокочастотная ИВЛ чаще требовалась новорожденным 2-й группы (2,7 и

8,3%,  $p_{1-2} > 0,05$ ). Неинвазивный СРАР как стартовый метод респираторной поддержки был возможен лишь в группе выздоровевших детей. У 18% новорожденных пневмония осложнилась легочным кровотечением, у 8,2% – спонтанным пневмотораксом.

Средняя продолжительность традиционной ИВЛ у выздоровевших новорожденных составила 5 сут (120 ч), ИВЛ методом nCPAP – 4 сут (96 ч). Высокочастотная ИВЛ проводилась 1 ребенку данной группы, длительность ее составила 3 сут. Средняя продолжительность традиционной ИВЛ в группе умерших детей значимо не отличалась и составила 6 сут (144 ч), это связано с тем, что подавляющее большинство новорожденных погибли в первые дни жизни.

Помимо респираторной поддержки, все глубоконедоношенные новорожденные с врожденной пневмонией в отделении получали антибактериальную, иммунокорректирующую терапию, противогрибковые препараты, энтеральное и парентеральное питание, инфузионную терапию, при необходимости осуществлялась коррекция водно-электролитных нарушений, тяжелой анемии и дефицита факторов свертывания крови.

Исследование содержания кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате у детей с врожденной пневмонией показало, что его содержание сопряжено с исходами заболеваний.

У детей, выздоровевших от пневмонии, концентрации кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате были существенно увеличены по сравнению с его содержанием у новорожденных, умерших от врожденной пневмонии (19,7 и 7,9 нг/мл в 1-й и 2-й группах соответственно,  $p_{1-2} < 0,05$ ), что может быть обусловлено недостаточностью врожденной иммунной защиты у глубоконедоношенных детей 2-й группы.

Полученные результаты подтверждают данные однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), с помощью которого была установлена достоверная зависимость различных исходов врожденной пневмонии от уровня кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате в 1–2-е сутки жизни (статистический критерий Краскела–Уоллиса 12,42963, что соответствует  $p = 0,02$ ).

Относительный риск (relative risk) летального исхода врожденной пневмонии у глубоконедоношенных детей с более низкими значениями кателицидина LL37 ( $< 10,2$  нг/мл) в фарингеальном аспирате по сравнению с новорожденными с более высоким его уровнем ( $> 10,2$  нг/мл) составил 13,5 (1,9–96,5;  $p = 0,0002$ ), что свидетельствует о том, что у детей с врожденной пневмонией и низким содержанием кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате риск летального исхода в 13,5 раза выше, чем у детей с врожденной пневмонией и высоким содержанием кателицидина.

Корреляционный анализ в исследуемых группах позволил установить наличие значимой положительной корреляции между уровнем антимикробного кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате в 1–2-е сутки жизни и числом дней ИВЛ ( $R = 0,5$ ;  $p = 0,001$ ), числом дней антибактериальной терапии ( $R = 0,4$ ;  $p = 0,002$ ), числом дней иммунной терапии ( $R = 0,3$ ;  $p = 0,04$ ).

Полученные данные указывают на то, что содержание кателицидина в фарингеальном аспирате выше у детей с тяжелым течением врожденной пневмонии, которые потребовали проведения более длительной ИВЛ, антибактериальной и иммунной терапии.

Установлена также значимая корреляция между уровнем кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате (1–2-е сутки жизни) и количеством нейтрофилов в общем анализе крови (1-е сутки жизни) ( $R = 0,3$ ;  $p = 0,04$ ), что свидетельствует об активации нейтрофилов и интенсивной выработке ими защитного кателицидина в очаге воспаления.

Учитывая антиинфекционные свойства кателицидина, его большое количество у детей с тяжелым течением пневмонии могло способствовать их выздоровлению. У детей с низким содержанием кателицидина LL37 при тяжелом течении пневмонии защитные свойства кателицидина не были реализованы, что, по нашему мнению, могло способствовать летальному исходу у детей с врожденной пневмонией. Это согласуется с данными других авторов, установивших, что действие кателицидина зависит от его концентрации в тканях [10, 11].

Таким образом, содержание кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате в 1–2-е сутки жизни коррелирует с тяжестью течения врожденной пневмонии, длительностью искусственной вентиляции легких, антибактериальной и иммунной терапии. Исход заболевания связан с эндогенной продукцией кателицидина. У выживших от пневмонии новорожденных детей концентрации кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате были существенно большими, чем у умерших детей.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бениова С.Н., Полякова М.С., Невмержицкая О.В., Блохина Н.П., Шегеда М.Г. Механизмы иммунной адаптации у новорожденных детей при внутриутробных пневмониях. *Медицинская иммунология*. 2008; 10 (4-5): 473–6.
2. Зубков В.В., Байбарина Е.Н., Рюмина И.И., Дегтярев Д.Н. Диагностическая значимость признаков пневмонии у новорожденных детей. *Акушерство и гинекология*. 2012; 7: 68–73.
3. Шилова Н.А., Чаша Т.В., Попова И.Г., Хорошилова А.Г. Клиническое значение исследования пневмопротеинов у глубоко недоношенных детей. *Российский педиатрический журнал*. 2013; 1: 28–31.
4. Любасовская Л.А., Припутневич Т.В., Анкирская А.С., Дегтярев Д.Н., Антонов А.Г., Ионов О.В. и др. Особенности микробной колонизации новорожденных в отделении реанимации и интенсивной терапии. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2013; 3: 87–91.
5. Gezer A., Parafit-Yalciner E., Guralp O. et al. Neonatal morbidity outcomes in pre-term prematur ruptur of membranes. *J. Obstet. Gynaecol.* 2013; 33(1): 38–42.
6. Mendz G.L., Kaakoush N.O., Quinlivan J.A. Bacterial aetiological agents of intra-amniotic infections and preterm birth in pregnant women. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013; 3: 58.
7. Абатуров А.Е. Катионные антимикробные пептиды системы неспецифической защиты респираторного тракта: дефензины и кателицидины. Дефензины – молекулы, переживающие ренессанс (часть 1). *Здоровье ребенка*. 2011; 7(34): 161–70.

8. Кокряков В.Н., Алешина Г.М., Шамова О.В., Орлов Д.С., Андреева Ю.В. Современная концепция об антимикробных пептидах как молекулярных факторах иммунитета. *Медицинский академический журнал*. 2010; 10 (4): 149–60.
9. Duplantier A.J., van Hoek M.L. The human cathelicidin antimicrobial peptide LL-37 as a potential treatment for polymicrobial infected wounds. *Front. Immunol.* 2013; 4: 143.
10. Bucki R., Leszczyńska K., Namioł A., Sokolowski W. Cathelicidin LL-37: multitask antimicrobial peptide. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*. 2010; 58(1): 15–25.
11. Chow J.Y., Li Z.J., Kei W.K., Cho C.H. Cathelicidin a potential therapeutic peptide for gastrointestinal inflammation and cancer. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19(18): 2731–5.
12. Schaller-Bals S., Schulze A., Bals R. Increased levels of antimicrobial peptides in tracheal aspirates of newborn infants during infection. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 165(7): 992–5.

#### REFERENCES

1. Beniova S.N., Polyakova M.S., Nevmerzhitskaya O.V., Blokhina N.P., Shegeda M.G. Mechanisms of immune adaptation in newborn infants with intrauterine pneumonia. *Meditsinskaya immunologiya*. 2008; 10 (4-5): 473–6. (in Russian)
2. Zubkov V.V., Baybarina E.N., Ryumina I.I., Degtyarev D.N. The diagnostic value of signs of pneumonia in infants. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2012; 7: 68–73. (in Russian)
3. Shilova N.A., Chasha T.V., Popova I.G., Khoroshilova A.G. The clinical significance of the study of pneumoproteins in very preterm infants. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal*. 2013; 1: 28–31. (in Russian)
4. Lyubasovskaya L.A., Priputnevich T.V., Ankirskaya A.S., Degtyarev D.N., Antonov A.G., Ionov O.V. et al. Features of microbial colonization in neonatal intensive care unit babies. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrie*. 2013; 3: 87–91. (in Russian)
5. Gezer A., Parafit-Yalciner E., Guralp O. et al. Neonatal morbidity outcomes in pre-term prematur ruptur of membranes. *J. Obstet. Gynaecol.* 2013; 33(1): 38–42.
6. Mendz G.L., Kaakoush N.O., Quinlivan J.A. Bacterial aetiological agents of intra-amniotic infections and preterm birth in pregnant women. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013; 3: 58.
7. Abaturov A.E. Cationic antimicrobial peptides of non-specific respiratory protection: defensins and cathelicidins. Defensins – molecules undergoing a renaissance (Part 1). *Zdorov'e rebenka*. 2011; 7(34): 161–70. (in Ukraine)
8. Kokryakov V.N., Aleshina G.M., Shamova O.V., Orlov D.S., Andreeva Yu.V. The modern conception of antimicrobial peptides as molecular factors of immunity. *Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal*. 2010; 10 (4): 149–60. (in Russian)
9. Duplantier A.J., van Hoek M.L. The human cathelicidin antimicrobial peptide LL-37 as a potential treatment for polymicrobial infected wounds. *Front. Immunol.* 2013; 4: 143.
10. Bucki R., Leszczyńska K., Namioł A., Sokolowski W. Cathelicidin LL-37: multitask antimicrobial peptide. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*. 2010; 58(1): 15–25.
11. Chow J.Y., Li Z.J., Kei W.K., Cho C.H. Cathelicidin a potential therapeutic peptide for gastrointestinal inflammation and cancer. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19(18): 2731–5.
12. Schaller-Bals S., Schulze A., Bals R. Increased levels of antimicrobial peptides in tracheal aspirates of newborn infants during infection. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 165(7): 992–5.

Поступила 27.01.14

#### Сведения об авторах:

**Чаша Татьяна Валентиновна**, доктор мед. наук, проф., зав. отделом неонатологии и клинической неврологии детского возраста, зав. отделом выхаживания недоношенных детей 2-го этапа; **Малышкина Анна Ивановна**, доктор мед. наук, директор ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, e-mail: ivniimid@ivnet.ru; **Родина Мария Александровна**, мл. науч. сотр. отдела неонатологии и клинической неврологии детского возраста, врач-неонатолог выхаживания недоношенных детей 2-го этапа; **Попова Ирина Геннадьевна**, канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. клинической биохимии и генетики, врач клинико-диагностической лаб.