

ПЕДИАТРИЯ

УДК 616.89-008.481-053

АНАЛИЗ ЦИТОКИНОВОГО БАЛАНСА КРОВИ У ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С ДЫХАТЕЛЬНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

© 2006 г. В.В. Эстрин, Е.А. Ефанова

The discovery of cytokines and of their regulating role in immune response has determined the researches into cytokine role in different pathological states. Direct data shows diagnostic and prognostic importance of cytokine level measurement in blood serum, concerning etiologic factors, injury conditions and severity of pathological process.

Несмотря на большие достижения фундаментальных наук, клинической медицины и практического здравоохранения, сепсис остается медицинской, демографической и экономической проблемой человечества в силу неуклонной тенденции к увеличению числа больных и стабильно высокой летальности [1, 2].

За последние годы не произошло значительного уменьшения частоты развития неонатального сепсиса. Среди недоношенных детей, родившихся с массой 1000 г и более, доля инфекции в структуре причин смерти в 15–20 раз выше, чем среди доношенных. В Российской Федерации в структуре смертности новорожденных и детей раннего возраста сепсис как причина смерти в течение нескольких десятилетий занимает 3–4 место, составляя в среднем 4–5 случаев на 1000 живорожденных [3]. Это определяется группой объективных факторов: с каждым годом увеличивается рождение недоношенных детей с неблагоприятным течением анте- и интранатального периодов, часто на фоне тяжелого постасфиксического синдрома, которые составляют группу высокого риска по развитию раннего и госпитального сепсиса.

Исследованиями последних лет показано, что сепсис – это клиническое проявление особого типа реагирования организма на повреждающий фактор, в роли которого чаще всего выступает бактериальная или грибковая флора, и выражающийся во взаимодействии системного воспалительного и противовоспалительного ответов с временным или устойчивым преобладанием одного из них. Согласно представлениям о системном ответе и цитокиновой концепции патогенеза сепсиса, выдвинутому R.C. Bone [4], в основе прогрессирования сепсиса с множественными органными и системными дисфункциями лежит несбалансированность системного воспалительного и системного противовоспалительного ответов. Причины данного дисбаланса четко не обозначены, хотя и установлен факт генетической предрасположенности к развитию сепсиса.

Целью нашего исследования явилось сравнительное изучение баланса про- и противовоспалительных цитокинов крови новорожденных детей с дыхательными расстройствами, основное заболевание которых осложнилось септической инфекцией или протекало без него.

Материалы и методы

Нами было обследовано 64 доношенных новорожденных с дыхательными расстройствами, обусловленными мекониальной аспирацией и/или гипоксическим поражением центральной нервной системы, в услови-

ях отделения реанимации новорожденных РНИИАП. Ретроспективно все дети были разделены на две группы: I группу составили пациенты, основное заболевание которых не осложнилось септической инфекцией ($n = 57$); во II – вошли новорожденные с присоединившимся сепсисом, из крови которых была выделена культура возбудителя ($n = 17$).

Все дети находились на искусственной вентиляции легких (ИВЛ), родились в сроке гестации $39 \pm 2,1$ неделя, с массой тела 3700 ± 565 г, от матерей в возрасте $26 \pm 7,4$ лет, с оценкой по Апгар $3,2 \pm 1,6$ баллов, от женщин с отягощенным акушерским анамнезом, от беременностей высокого риска (угроза прерывания, гестоз, анемия, эпизоды острых инфекционных заболеваний, обострение хронических соматических заболеваний).

Тяжесть состояния новорожденных была обусловлена дыхательной недостаточностью. Все дети были переведены на ИВЛ в родильном зале и транспортированы в отделение реанимации в первые часы – дни жизни ($3 \pm 0,9$).

Все пациенты поступили в отделение в первые 48 ч жизни в тяжелом и крайне тяжелом состоянии, с выраженными нарушениями деятельности дыхательной, сердечно-сосудистой, нервной системы, с глубокими метаболическими расстройствами.

У детей II группы на 3–5 сут появились клинико-лабораторные признаки бактериальной инфекции (пневмония, омфалит, менингит, гепатит, энтероколит и др.), впоследствии развился неонатальный сепсис, подтвержденный бактериальным посевом крови.

На фоне проводимой терапии состояние всех детей первой группы и 11 детей второй группы стабилизировалось, они были переведены в отделение патологии новорожденных для дальнейшего лечения.

У 6 детей второй группы, несмотря на проводимую комплексную, инфузионную, посиндромную, антибактериальную терапию, отмечалось ухудшение состояния и нарастание полиорганной недостаточности, что привело к развитию септического шока и летальному исходу на 21 ± 7 день лечения.

Новорожденным помимо общеклинических проводились дополнительные исследования по определению концентрации цитокинов крови. Программа обследования включала измерение плазменных уровней интерлейкинов (ИЛ) 1b, ИЛ6, ИЛ8, ИЛ4, фактора некроза опухолей (ФНО), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), растворимого FAS (sFAS), фактора роста фибробластов (ФРФ) методами

иммуноферментного анализа. Забор венозной крови осуществляли сразу при поступлении детей в отделение до начала лекарственной терапии, на 3–5 сут заболевания и в его исходе. Исходом заболевания считали момент перевода ребенка в отделение патологии новорожденных или летальный исход.

Результат анализа определяли на многофункциональном фотометре «Viktor», Wallak, (Финляндия) при длине волны 450 нм. Анализ результатов проводился автоматически с помощью программы «Viktor-Wallak».

Статистический анализ

Результаты исследования оценивались методом вариационной статистики с использованием выборочного среднего, стандартного отклонения, средней квадратичной ошибки, доверительных интервалов, медианы и ошибки медианы. Учитывая характер распределения количественных данных, полученных в результате исследования, а также объем выборки, достоверность различий в нашем исследовании определялась с использованием непараметрического критерия Вилкоксона. Проверка достоверности гипотез проведена точным методом Фишера–Ирвина в отношении двусторонней альтернативы.

Критическим уровнем значимости, ниже которого результаты исследования считались статистически

значимыми, было принято значение $\alpha < 0,05$. Статистическая мощность исследования составила 80 %. Проведена оценка точности прогностического метода путем расчета его операционных характеристик. В исследовании использовались следующие пакеты прикладных программ: Excel-2000, «Megastat», Statistica-6.

Чувствительность и специфичность для всех возможных «cutoff» рассчитывалась методом построения характеристической кривой для каждого иммунологического маркера. По этим кривым была установлена оптимальная точка «cutoff», которая позволила рассчитать предсказательную ценность положительного результата (ПЦП) и предсказательную ценность отрицательного результата (ПЦО) для каждого теста.

Исследование было одобрено этическим комитетом РНИИАП. У родителей пациентов было получено информированное согласие на все проводимые исследования.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного статистического анализа были установлены достоверно значимые различия между показателями лабораторных исследований у новорожденных изучаемых групп в указанные сроки наблюдения (таблица).

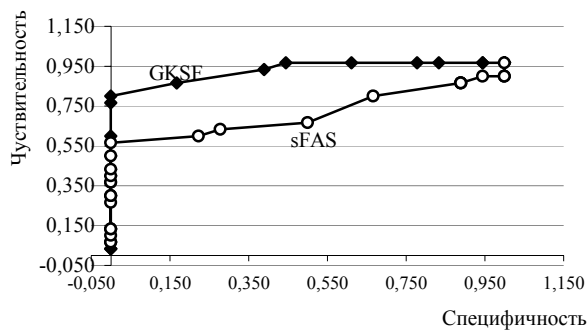
Показатели крови новорожденных I и II групп, достоверно имеющие различия в указанные сроки наблюдения

Группа	Показатель						p
	Медиана	Квартиль 25 %	Квартиль 75 %	Медиана	Квартиль 25 %	Квартиль 75 %	
	I – без сепсиса			II – с сепсисом			
Г-КСФ – 1 сут	1,57	1,755	1,05	0,745	1,15	0,545	0,006685
sFAS – 1 сут	6250	7385	5470	4874,5	5777,5	3396,5	0,023968
ФРФ – 1 сут	19,2	30,85	2,25	6,85	26,475	2,325	0,037555
Г-КСФ – 3–5 сут	1,31	2,44	1,1	0,73	1,67	0,162	0,008604
ИЛ-8 – 3–5 сут	530	567	406	627,05	705,1	545,25	0,008604
ИЛ – 4–3–5 сут	21,9	25,95	3,6	10,1	31,9	1,1	0,023502
ФРФ – 3–5 сут	37,9	53,05	22,9	25,35	40,55	8,1	0,016113
Г-КСФ – исход	2,47	3,36	1,44	0,37	1,69	0,1	0,000566
ИЛ8 – исход	296,6	397,7	189,25	599,15	636,2	473,5	0,000566
ИЛ6 – исход	317,7	319,0	17,2	110,2	387	97,0	0,026851
ИЛ4 – исход	41,45 81,1	63,9	2,2	15,2	57	1,1	0,041743
Ил1β – исход	435,	575,9	300	178,1	339,2	154,2	0,047151
sFAS – исход	5160	7537,5	1964,5	2308	6172	1950	0,042647
ФРФ – исход	82,3	156,8	34,8	41,2	62,9	13,6	0,018079

Результаты наших исследований продемонстрировали, что белки воспаления и активации иммунной системы доношенных новорожденных с дыхательными расстройствами без признаков внутриутробного инфицирования не различаются достоверно при поступлении в отделение. Однако маркеры пролиферации и ростовые факторы достоверно выше у детей, состояние которых в дальнейшем не осложнилось присоединением инфекционного септического процесса (Г-КСФ, ФРФ и sFAS). Совершенно очевидно, что ростовые факторы в детском организме играют решающую роль

в поддержании иммунной системы в активном состоянии, способном защитить от инфекции (рисунок).

Этот вывод косвенно подтверждается недавними работами многих авторов, которые показали, что профилактическое введение Г-КСФ предупреждает развитие сепсиса как у доношенных, так и у недоношенных новорожденных [6–8]. Кроме того, как показано в [9], одним из основных проявлений функциональной незрелости лимфоцитов является отсутствие в сыворотке пуповинной крови ростовых факторов, что согласуется с результатами нашей работы.



Характеристическая кривая для изучаемых цитокинов у новорожденных при поступлении в отделение с целью прогноза септической инфекции

Построение характеристической кривой позволило установить точку разделения с учетом последствий ложных прогностических решений (чувствительности и 1-специфичности, рисунок). Для Г-КСФ точкой пересечения чувствительности и 1-специфичности в нашем случае оказалась 2 232 пкг/мл. ПЦП теста составила 94 и ПЦО 96 %. Для sFAS «cutoff» была установлена 7403 пкг/мл с ПЦП 92 и ПЦО 72 %. Для ФРФ при «cutoff» 38,11 пкг/мл ПЦП теста составила 100, а ПЦО 72 %.

Таким образом, используя полученные данные, можно прогнозировать развитие септической инфекции у доношенных новорожденных с дыхательными расстройствами с достаточно высокой степенью вероятности при поступлении в отделение интенсивной терапии.

В нашей работе на 3–5 сут лечения в отделении у новорожденных мы наблюдали достоверные различия показателей провоспалительных и регуляторных цитокинов крови (таблица). У новорожденных, основное заболевание которых не осложнилось присоединением септической инфекции, достоверно выше были концентрации в крови ростовых, пролиферативных факторов (Г-КСФ, ФРФ) и противовоспалительного цитокина – ИЛ4. У детей с сепсисом достоверно более высокой была концентрация провоспалительного цитокина – ИЛ8. Таким образом, цитокиновый статус доношенных новорожденных с септической инфекцией характеризуется дисбалансом системного воспалительного и системного противовоспалительного ответов. Полученные результаты совпадают с результатами зарубежных и отечественных исследователей. Это позволяет подтвердить ранее сделанные выводы о

том, что системное воспаление регулируется тонкими механизмами взаимодействия про- и противовоспалительных цитокинов [2, 3, 9].

В исходе заболевания анализ результатов исследования показал более глубокий дисбаланс цитокиновой регуляции. Концентрация Г-КСФ, ФРФ sFAS, ИЛ6, ИЛ4, ИЛ1 β у новорожденных первой группы оказались достоверно выше по сравнению с детьми, перенесшими септическую инфекцию. Концентрация основного маркера системного воспаления – ИЛ8 значительно превышала таковую у детей второй группы. Важно отметить, что уровень ИЛ1 β в крови новорожденных, умерших с основным диагнозом септическая инфекция, в исходе заболевания резко снижался до минимальных цифр, граничащих с чувствительностью тест-системы. Резкое падение концентрации ИЛ1 β в крови детей в критическом состоянии может рассматриваться как негативный прогностический признак.

Таким образом, из вышеизложенного можно заключить, что у доношенных новорожденных с дыхательными расстройствами, находящихся на ИВЛ, септическая инфекция сопровождается дисбалансом про- и противовоспалительной систем.

Ростовые факторы в детском организме играют решающую роль в поддержании иммунной системы в активном состоянии, способном защитить от инфекции.

Падение концентрации ИЛ1 β в крови новорожденных, состояние которых осложнилось присоединением септической инфекции, имеет отрицательную прогностическую значимость.

Литература

1. Руднов В.А. // Клиническая антимикробная химиотерапия. 2000. Т. 2. № 1. С. 2–7.
2. Rixen D., Siegel I.H., Friedman H.P. // J. Trauma. 1996. Vol. 41. № 4. P. 581–598.
3. Самсыгина Г.А., Баранов А.А. // Педиатрия. 2003. № 56. С. 4–8.
4. Bone B.C., Balk R.A., Cerra F.B. // Crit. Care Med. 1992. Vol. 20. P. 864–874.
5. Redl H. et al. // Clin. Chem. 1992. Vol. 38. № 5. P. 764–765.
6. Maheshwari A., Christensen R.D., Calhoun D.A. // Pediatrics. 2002. Vol. 109. P. 64.
7. Bernstein H.M., Calhoun D.A., Christensen R.D. // Curr Opin Pediatr. 2002. Vol. 14. P. 91–94.
8. Parravicini E. et al. // Transfus. Med. Rev. 2002. Vol. 16. P. 11–24.
9. Макагон А.В. и др. // Бюл. РАМН. 2005. № 2. С. 42–46.

УДК 616.89–008.481–053

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ФАКТОРОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АЛЬТЕРАЦИИ КЛЕТОК КРОВИ У ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С ДЫХАТЕЛЬНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

© 2006 г. Е.А. Ефанова

Solving cytokines, defining proliferation and activation of the immune system, have importance for developments of a neutropenia by newborn infants. The Low serum concentrations of these markers (G-CSF, FRF, sFAS) carry disadvantage predictionary nature of neutropenia. The high level of the process apoptosis of blood cells also defines the development neutropenia by newborn.

Доношенные новорожденные с дыхательными расстройствами (ДР) нуждаются в искусственной вен-

тиляции легких и интенсивном лечении в условиях реанимационного отделения. Летальность в этих слу-