

Д.А. Холод, Д.А. Шкурупій

**Імунні зміни у новонароджених із гастроінтестинальною недостатністю,
які потребують інтенсивної терапії**

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична
стоматологічна академія»

Курс анестезіології та інтенсивної терапії

Хворі в критичних станах мають певний ступінь імунного дефіциту. Класичні ланки патогнезу критичних станів – гіпоксія і ішемія – формують альтерацію тканин. Тканинне ушкодження запускає два варіанти імунної відповіді: неконтрольоване системне запалення, рушійною силою якого є запуск каскаду інтерлейкінів і порушення клітинних імунних функцій. У дорослих імунні порушення формуються за такими етапами: гострофазна відповідь, анергія, інфікування, синдром поліорганної недостатності [2].

У новонароджених, класичний шлях формування таких порушень унеможливується характерними анатомо-фізіологічними особливостями:

- високим абсолютним вмістом Т-супресорів і низькою активністю натуральних кілерів;
- низькими хемотаксисом і бактерицидністю фагоцитів;
- зниженою концентрацією імуноглобулінів М, А, ряду інтерлейкінів, факторів некрозу пухлин і клітинного росту.

Враховуючи розпочату мікробну колонізацію організму одразу після народження фактично на тлі імунодефіцитного стану, можна вважати, що новонароджені є загрозливими по розвитку системних патологічних станів, викликаних інфекційною агресією [5].

При критичних станах шлунково-кишковий тракт вважається головним джерелом такої агресії, чому у новонароджених додатково сприяє відсутність ендогенних секреторних імуноглобулінів слизових оболонок, нейтральне рН шлункового соку, низька моторна і ферментативна активність кишечника, активне всмоктування шляхом трансцитозу [1, 5].

Саме пошуком імунних порушень у новонароджених в критичних станах із змінами гастроінтестинальної системи обумовлена актуальність даної роботи.

Матеріали і методи дослідження. Проаналізована медична документація та проведене обстеження 44 новонароджених, які перебували на лікуванні у відділенні інтенсивної терапії з приводу наслідків асфіксії при народженні (n=15; 34,1%) і перинатального інфікування (n=29; 65,9%). У всіх новонароджених констатувалась наявність ознак синдрому поліорганної недостатності, в т.ч – і гастрінтестинальної недостатності, орієнтуючись на визначені раніше оригінальні критерії [6], синдрому системної запальної відповіді, шоку та сепсису за діючими міжнародними рекомендаціями [4, 5], оцінювалась тяжкість стану за шкалою неонатальної терапевтичної інтервенції. Аналізувались результати досліджень лейкоцитарної формули, експресії Т-хелперів (CD4⁺), Т-супресорів (CD8⁺) та апоптозу (CD95⁺), концентрації інтерлейкіну-1β, експресії гена Toll-like рецептори 2 типу. Визначався інтегральний показник функціонування лімфоцитарної імунної ланки вирахуванням імунорегуляторного індексу, який уявляє собою співвідношення CD4⁺/CD8⁺ [3].

Для контрольної оцінки отриманих результатів аналогічним чином були проаналізовані випадки захворювання 20 новонароджених, які лікувались у відділенні передчасно народжених. Ця група за віковим, статевим представництвом, характером основного захворювання статистично не відрізнялась від групи пацієнтів, які потребували інтенсивної терапії.

Статистичний аналіз даних проводився методами описової і непараметричної статистики, де використовували кількість спостережень (n), обчислення середнього арифметичного (M), помилки репрезентативності (m), медіани (Me), кватильного розмаху (50L, 50U), критерію відповідності χ^2 Пірсона критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні (U) з попереднім розрахунком суми рангів (Σr), коефіцієнта кореляції (R) Спірмена [7].

Результати дослідження та їх обговорення. Аналіз отриманих результатів показав, що у 44 обстежених новонароджених, які потребували інтенсивної терапії, частота реєстрації гастроінтестинальної недостатності становила 40,9% (n=18). Цей синдром жодного разу не був зареєстрований серед новонароджених відділення патології новонароджених.

Всі 18 новонароджених (100%) мали синдром поліорганної недостатності. Кореляційний аналіз, проведений серед всіх випадків дослідження продемонстрував пряму залежність наявності гастроінтестинальної недостатності із цим синдромом ($R=0,42$; $p<0,001$, $n=64$), при цьому гастроінтестинальна недостатність збільшувала кількість інших уражених систем ($R=0,32$; $p=0,02$, $n=50$). Можна припустити, що гастроінтестинальна недостатність підтримує і поглиблює поліорганні ураження у новонароджених через гіпоксично-ішемічні ушкодження кишечника і низькі механізми місцевого імунного захисту, викликаючи системні реакції. Про це свідчать значимі кореляційні зв'язки у новонароджених між наявністю гастроінтестинальної недостатності і ознаками сепсису ($R=0,33$; $p=0,02$, $n=50$). Це підтверджує і порівняльний аналіз у пацієнтів в умовах інтенсивної терапії: серед новонароджених с гастроінтестинальною недостатністю ознаки сепсису мали 14 хворих (77,8%), а серед новонароджених без неї – 11 хворих (30,6%) ($\chi^2=10,76$; $p=0,001$). Про ініціацію імунної відповіді за участю прозапальних антигенів свідчить прямий зв'язок між рівнем лейкоцитів і експресією гену Toll-like рецепторів 2 типу, який кодує синтез інтерлейкіну-1 β у відповідь на мікробну стимуляцію ($R=0,93$; $p=0,07$; $n=6$).

Імунологічні зміни у новонароджених із гастроінтестинальною недостатністю були пов'язані зі змінами гуморальної ланки, про що свідчать зв'язки наявності цього синдрому із рівнем інтерлейкіну-1 β ($R=0,48$; $p=0,002$, $n=40$), експресією CD8⁺ ($R=0,59$; $p=0,02$, $n=15$), імунорегуляторним індексом ($R=-0,56$; $p=0,03$, $n=15$).

Такі ж результати отримані і при порівняльному аналізі між критичними новонародженими за наявності гастроінтестинальної недостатності та без неї. У перших рівень інтерлейкіну-1 β склав 250,8 \pm 42,0 пкг/мл (Me=286,4; 50L=56,2; 50U=400,8; $\Sigma r=393$; n=14), експресія CD4⁺ - 24,3 \pm 2,7% (Me=20; 50L=19; 50U=29; $\Sigma r=42,5$; n=7), експресія CD8⁺ - 22,1 \pm 3,4% (Me=25; 50L=12; 50U=27; $\Sigma r=75$; n=7), імунорегуляторний індекс - 1,3 \pm 0,2 ум. од. (Me=1,1; 50L=1,0; 50U=1,6; $\Sigma r=38$; n=7). У других рівень інтерлейкіну-1 β був нижчим і склав 87,8 \pm 13,6 пкг/мл (Me=74,4; 50L=22,9; 50U=138,6; $\Sigma r=427$; n=26) (U=76; p=0,003), експресія CD4⁺ мала статистично не значиму різницю - 33,8 \pm 5,5% (Me=33; 50L=26; 50U=39; $\Sigma r=77,5$; n=8) (U=145; p=0,11), експресія CD8⁺ була меншою і склала 12,4 \pm 2,8% (Me=9,5; 50L=7; 50U=18; $\Sigma r=45$; n=8) (U=9; p=0,03), імунорегуляторний індекс був більшим і склав 3,9 \pm 0,9 ум. од. (Me=3,4; 50L=2,1; 50U=6,0; $\Sigma r=82$; n=8) (U=10; p=0,04). Зважаючи на те, що інтерлейкін-1 β ініціює прозапальний цитокіновий каскад [4], можна констатувати більшу імовірність ініціації системного запалення за наявності гастроінтестинальної недостатності. Разом з тим, у цих хворих наявна дисфункцію гуморальної ланки імунітету за рахунок збільшення пулу Т-супресорів, що викликало відповідні зміни імунорегуляторного індексу. Пул CD8⁺ не є однорідним і має не скільки супресивну, скільки регуляторну і кілерну активність [4]. Тому можна припустити, що подібні зрушення викликані мікробним компонентом.

Примітним є той факт, що порівняно із пацієнтами відділення патології новонароджених, у пацієнтів в критичних станах імунні зміни стосувались переважно лімфоцитарної ланки в бік відносної лімфопенії. Так, у пацієнтів відділення патології новонароджених рівень лімфоцитів склав 54,4 \pm 3,2% (Me=54; 50L=44,5; 50U=64,5; $\Sigma r=383,5$; n=16), у новонароджених в критичних станах із гастроінтестинальною недостатністю цей показник склав 28,4 \pm 3,3% (Me=26; 50L=17; 50U=38; $\Sigma r=177,5$; n=17) (U=24,5; p<0,01). При порівнянні того ж показника у пацієнтів відділення патології новонароджених ($\Sigma r=521,5$) із критичними пацієнтами без

гастроінтестинальної недостатності у останніх рівень лімфоцитів склав $27,3 \pm 2,9\%$ ($Me=25$; $50L=16$; $50U=39$; $\Sigma r=381,3$; $n=26$) ($U=30,5$; $p<0,01$).

У пацієнтів відділення патології новонароджених виразність $CD4^+$ склала $36 \pm 3,4\%$ ($Me=38,5$; $50L=24$; $50U=44$; $n=18$), $CD8^+$ - $12,2 \pm 1,1\%$ ($Me=11$; $50L=9$; $50U=16$; $n=18$), імунорегуляторний індекс - $3,2 \pm 0,3$ ($Me=2,7$; $50L=2,2$; $50U=3,6$; $n=18$). У критичних пацієнтів без гастроінтестинальної недостатності ці показники відносно пацієнтів відділення патології новонароджених статистично не відрізнялись і склали для $CD4^+$ відповідно $\Sigma r=251$ і 100 ($U=64$; $p=0,7$), для $CD8^+$ відповідно $\Sigma r=250$ і 101 ($U=65$; $p=0,7$), для імунорегуляторного індексу відповідно $\Sigma r=231$ і 120 ($U=60$; $p=0,5$). Порівняно із пацієнтами відділення патології новонароджених, у критичних новонароджених із гастроінтестинальною недостатністю лімфоцитарні зміни характеризувались імуносупресією, що відобразилось на достовірних змінах експресії $CD4^+$ (відповідно $\Sigma r=269,5$ і $55,5$) ($U=27,5$; $p=0,03$), $CD8^+$ (відповідно $\Sigma r=192$ і 133) ($U=21$; $p=0,01$), імунорегуляторному індексі (відповідно $\Sigma r=293,5$ і $31,5$) ($U=3,5$; $p<0,001$), що є черговим підтвердженням імунологічної агресії.

У обстежених новонароджених звертає на себе увагу різниця у виразності експресії $CD95^+$, який є маркером апоптозу лімфоцитів. Так, у пацієнтів відділення патології новонароджених цей показник склав $10,3 \pm 2,1\%$ ($Me=6$; $50L=4$; $50U=13$), у критичних новонароджених із гастроінтестинальною недостатністю - $12,6 \pm 1,9\%$ ($Me=13$; $50L=8$; $50U=18$), у критичних новонароджених без неї - $4,5 \pm 1,1\%$ ($Me=4$; $50L=2$; $50U=6,5$). Статистичний аналіз у новонароджених в умовах інтенсивної терапії встановив більший рівень експресії $CD95^+$ у пацієнтів з гастроінтестинальною недостатністю ($\Sigma r=79$) проти пацієнтів без цього синдрому ($\Sigma r=41$) ($U=5$; $p=0,007$). Статистичний аналіз експресії $CD95^+$ встановив значиму різницю між пацієнтами відділення патології новонароджених ($\Sigma r=276,5$) та новонародженими в критичних станах без гастроінтестинальної недостатності ($\Sigma r=74,5$) ($U=38,5$; $p=0,006$) і не виявив її

між пацієнтами відділення патології новонароджених ($\Sigma r=211,5$) та новонародженими із гастроінтестинальною недостатністю ($\Sigma r=113,5$) ($U=40,5$; $p=0,17$). Рівень експресії $CD95^+$ є свідченням готовності лімфоцитів до апоптозу. Цей шлях традиційно реалізується як механізм ліквідації імунних клітин, які виконали свою функцію. Особливої значимості цей механізм набуває в клітинах, які здатні до активної продукції прозапальних цитокінів і, внаслідок цього, підтримують системну запальну реакцію [8]. В даному випадку подібні зміни можна пояснити або ж настанням фази імунної анергії у новонароджених без гастроінтестинальної недостатності, або (що найбільш імовірно) зниженою антигенною стимуляцією, на відміну від новонароджених із таким станом. Про це опосередковано свідчать і наведені вище кількісні показники інтерлейкіну- 1β .

Формування гастроінтестинальної недостатності безпосередньо погіршувало стан пацієнтів, про що свідчать її прямі зв'язки із оцінкою тяжкості стану за шкалою неонатальної терапевтичної інтервенції ($R=0,31$; $p=0,03$, $n=50$). Крім того, тяжкість стану була пов'язана із системним запаленням, про що свідчить прямий зв'язок оцінки тяжкості стану із рівнем експресії гену Toll-like рецепторів 2 типу ($R=0,8$; $p=0,04$; $n=6$).

Висновки. У новонароджених із гастроінтестинальною недостатністю в умовах інтенсивної терапії:

1. Даний синдром реєструється з частотою 40,9%, є складовою синдрому поліорганної недостатності, а також фактором його поглиблення і персистенції;
2. Активується формування септичної відповіді, що підтверджується експресією гену Toll-like рецепторів 2 типу;
3. Спостерігаються зміни гуморальної імунної ланки, про що свідчать прямі зв'язки із рівнем інтерлейкіну- 1β , експресією $CD8^+$ і зворотній зв'язок із імуnoreгуляторним індексом;
4. Зміни лімфоцитарної ланки полягають у формуванні лімфопенії і дисбалансі диференціації лімфоцитів на користь Т-супресорної фракції;

5. Лімфоцитарна реакція характеризується активацією апоптозу, що може пояснюватись екзогенною антигенною стимуляцією;

6. Формування даного синдрому безпосередньо погіршує стан пацієнтів, в т.ч – і за рахунок провокації системних запальних реакцій.

Список літератури.

1. Иммунология детского возраста / [О.В. Барабанова, С.Р. Варфоломеева, Ю.Ф. Влацкая и др.] ; под. ред. А.Ю. Щербины, Е.Д. Пашанова. - М.: ИДМЕДПРАКТИКА, 2006.-432с.

2. Интенсивная терапия: национальное руководство: в 2 т. / [М.М. Абакумов, С.Н. Авдеев, В.Л. Айзенберг и др.]; под. ред. Б.Р. Гельфанда, А.И. Салтанова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009.-Т. I. - 960 с.

3. Камышников В.С. Справочник по клинико_биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С.Камышников.– 3-е изд.– М.: МЕДпресс.-информ, 2009,– 896 с.

4. Козлов В. К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии / В. К. Козлов.–К.: «АННА-Т», 2007. – 296 с.

5. Неонатология: национальное руководство / [А.Г. Антонов., Н.Н. Володин., Н.Н. Арестова и др.]; под ред Н.Н. Володина.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009.- 750 с.

6. Пат. Україна № 55445, МПК А61В 5/145 Спосіб діагностики синдрому поліорганної недостатності у новонароджених / Шкурупій Д.А.; заявник та патентовласник Шкурупій Д.А. - №U201008024; заявл. 29.06.2010; опубл. 10.12.2010, Бюл. №23.

7. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва – М: Медиасфера, 2002. – 312 с.

8. Усиление апоптозу CD95+-лимфоцитов под влиянием синтетического пептида из альфа-фетопропротеида человека / А.А Терентьев, Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси и др. // Современные наукоемкие технологии. – 2005. – № 10 – стр. 66-68.

Відомості про авторів

1. Холод Дмитро Анатолійович, магістрант курсу анестезіології та інтенсивної терапії ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава), 36024, м. Полтава, вул.. Шевченка, 23.
2. Шкурупій Дмитро Анатолійович, д.мед.н, доцент, завідувач курсу анестезіології та інтенсивної терапії ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава), 36024, м. Полтава, вул.. Шевченка, 23., тел.. 067-724-74-28, e-mail: Shkurupiy@list.ru.