



Аманова Нодира Тулкиновна,
Ташкентский Педиатрический Медицинский институт
Исмаилова Адолат Абдурахимовна,
Институт иммунологии и геномики человека Академии
Наук Республики Узбекистан, Ташкент

ЗНАЧЕНИЕ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ НОВОРОЖДЁННЫХ ДЕТЕЙ

АННОТАЦИЯ

Показано, что в раннем периоде постнатальной иммунной адаптации здоровых доношенных новорожденных детей на фоне высокой антигенной нагрузки отмечается развитие лабораторных признаков системной воспалительной реакции, что выражается в достоверном увеличении сывороточных и плазменных концентраций провоспалительных цитокинов и изменении уровней белков острой фазы воспаления. Выявленные лабораторные признаки в физиологических условиях не сопровождаются развитием клинической картины системного воспаления, инфекционного токсикоза и полиорганной недостаточности. Баланс про- и противовоспалительных цитокинов может являться ключевым моментом, обуславливающим клиническое состояние ребенка. Нарушение его при развитии осложнений неонатального периода может приводить к клинической манифестации заболеваний.

Ключевые слова: новорождённые, иммунная система, физиологическая адаптация, провоспалительные и противовоспалительные цитокины, интерлейкины.

Amanova Nodira Tulkinovna,
Tashkent Pediatric Medical Institute
Ismailova Adolat Abdurakhimovna,
Institute of Immunology and Human Genomics of the Academy
Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent

THE SIGNIFICANCE OF PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN THE PHYSIOLOGICAL ADAPTATION OF NEWBORN CHILDREN

ANNOTATION

It has been shown that in the early period of postnatal immune adaptation of healthy full-term newborns against the background of a high antigenic load, the development of laboratory signs of a systemic inflammatory reaction is noted, which is expressed in a significant increase in serum and plasma concentrations of pro-inflammatory cytokines and changes in the levels of proteins of the acute phase of inflammation. The identified laboratory signs in physiological conditions are not accompanied by the development of the clinical picture of systemic inflammation, infectious toxicosis and multiple organ failure. The balance of pro- and anti-inflammatory cytokines can be a key factor in determining the clinical condition of a child. Its violation with the development of complications of the neonatal period can lead to clinical manifestation of diseases.

Key words: newborns, immune system, physiological adaptation, pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, interleukins.

Актуальность исследования. Известно, что вопросам иммунологии беременности, плода и особенно новорождённого посвящено огромное число работ [1,4,6,9]. Установлено, что важная роль в иммунных процессах принадлежит цитокинам, так называемым межклеточным белковым медиаторам, с помощью которых происходит общение между клетками. Так, цитокины участвуют в механизмах взаимодействия клеток [2,3,5,6,10].

Данный обзор посвящен вопросам изучения про- и противовоспалительных интерлейкинов,

которые способствовали постнатальной адаптации иммунной системы новорождённого.

Цитокины выступают посредниками в развитии воспалительных и иммунных реакций в системе мать плацента плод. При наступлении преждевременных родов происходит активация про- и противовоспалительных цитокинов, также нарушение функциональных и морфологических свойств клеточных мембран, энергетического обмена [2,3,7,11,15]. Плод и плацента имеют общую гуморальную среду — амниотическую жидкость, оказывающую важное влияние на

морфофункциональное состояние самой плаценты, её оболочек, пуповины, а также лёгких плода. В работах, посвящённых аспектам иммунологии новорождённых [8,10,11,14], доминирует понятие системной воспалительной реакции, связанное с развитием внутриутробной пневмонии, неонатального сепсиса. Согласно данным литературы, становится понятно, что понимание значения и роли адаптационных механизмов, особенно ярко видно, при патологии. Поэтому в литературе много публикаций, посвященных исследованию роли адаптации при различных патологических состояниях новорожденного.

Известно, что первая неделя жизни ребенка представляет собой период радикальной функциональной, а в ряде случаев и анатомической, перестройки всех органов и систем. Результатом происходящих изменений является адаптация организма новорожденного малыша к внеутробной жизни и самостоятельное поддержание постоянства внутренней среды без помощи организма матери. Роль иммунной системы в ранней постнатальной адаптации чрезвычайно важна. В процессе перехода из стерильных условий внутриутробного развития в условия повышенной антигенной нагрузки неизбежно изменяется состояние различных звеньев иммунной системы. В результате одновременно происходят разнонаправленные процессы: постепенное становление адекватного иммунного ответа, формирование иммунологической памяти и поддержание иммунологической толерантности, сдерживание возможного развития гиперергических реакций и воспаления. Установление оптимального баланса этих процессов позволяет малышу расти здоровым [1,4,7,12,13].

В современной литературе большое количество работ посвящено исследованию роли моноцитарно-макрофагового звена в регуляции иммунного ответа новорожденных детей [3,4,5,8,9]. Было изучено, что местное и системное повышение концентраций провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1b, хемокин ИЛ-8, TNF-a, ИЛ-6 и многие другие, при этом возникает распознавание и представление антигенов макрофагами, что является необходимым для активации, пролиферации и дифференцировки лимфоцитов, изменение функционального состояния нейтрофилов [4,5,6,10,13]. Так, высокие уровни провоспалительных цитокинов вызывают развитие системной воспалительной реакции [5,7,10,12]. Установлено, что фетальные моноциты и макрофаги обладают способностью к секреции провоспалительных цитокинов уже в конце первого триместра беременности [4,7]. В суспензии клеток цельной пуповинной крови уровни индуцированной липополисахаридом (ЛПС) продукции TNF-a, ИЛ-8, ИЛ-6 сопоставимы с таковыми в периферической крови взрослых [6]. Будучи сформированной уже на ранних стадиях онтогенеза, способность моноцитов к продукции провоспалительных цитокинов в физиологических условиях не зависит от гестационного возраста [4,6,10,15]. Напротив, функциональное состояние лимфоцитов новорожденных, и продукция ими противовоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-4, ИЛ-10 и другие зависят от степени зрелости и гестационного возраста ребенка. Так, к примеру, у недоношенных детей снижены сывороточные концентрации ИЛ-10 [14,15], а также уровни пролиферации Т-лимфоцитов и цитотоксичности

естественных киллерных клеток [4], стимулированной фитогемагглютинином (ФГА) продукции ИЛ-4 [1,4]. Степень снижения данных показателей прямо пропорциональна гестационному возрасту. В целом ряде работ была доказана взаимосвязь материнской инфекции, особенностей течения родов, возникновения ишемии реперфузии в различных органах и тканях и цитокинового статуса новорожденных детей [3,4,6,11,14,15].

Изучение особенностей баланса про- и противовоспалительных цитокинов при физиологическом течении раннего периода постнатальной адаптации представляется нам задачей интересным и крайне актуальной, так как это будет являться неким протоколом понимания иммунных адаптационных механизмов у новорожденных. Тем, более что, на сегодняшний день такие данные крайне необходимы из-за текущей пандемии по Ковид-19, когда мы наблюдаем рождение детей от матерей, переболевших Ковид-19 во время беременности. Так, влияние цитокинов на клиническую картину и течение заболеваний у новорожденных детей осуществляется через воздействие на иммунную, центральную нервную, эндокринную и сердечно-сосудистую системы, функцию печени, гемопоэз и т.д. Большой практический интерес представляет анализ взаимосвязи гипоксии, гестационного возраста, внутриутробной и постнатальной инфекции и сывороточных уровней цитокинов как показателей, доступных для мониторинга в клинических условиях [7,8,9,10,11].

В данном обзоре, мы поставили цель по ознакомлению с данными по изучению уровня про- и противовоспалительных цитокинов в циркуляции новорожденных детей при физиологическом течении раннего периода адаптации, оценка их диагностического и прогностического значения.

Очень интересная статья, где показано, что объектом иммунологического обследования была пуповинная и периферическая кровь новорожденных детей первой недели жизни. Исследование венозной крови осуществляли на 1-2 и 3-7 сутки жизни. Специальная программа обследования включала определение плазменных и сывороточных уровней ИЛ-8, ИЛ-1b, TNF-a, ИЛ-4 у новорожденных детей. Исследования были проведены методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Иммунофенотипирование лимфоцитов после выделения мононуклеарных клеток проводили методом люминесцентной микроскопии с окрашиванием моноклональными антителами к кластерам дифференцировки CD3, CD4, CD8, CD21, CD16, CD25. Гуморальное звено иммунитета изучали методом иммуноферментного анализа: сывороточные иммуноглобулины G, M, A.

Результаты исследований показали, что в предшествующих публикациях [5,8,10,14] было показано, что уровень ИЛ-1b в плазме пуповинной крови здоровых доношенных новорожденных был достоверно выше, а уровень спонтанной продукции ИЛ-4, ингибирующего дифференцировку Т-хелперов 1 типа и угнетающего синтез макрофагами провоспалительных цитокинов, достоверно ниже, чем в периферической крови взрослых доноров. Плазменные уровни другого противовоспалительного цитокина - TGF-b₁ - также были снижены у здоровых новорожденных детей по сравнению с таковыми у взрослых. Концентрации TNF-a в плазме крови детей и взрослых достоверно не различались. Следовательно, полученные результаты

свидетельствуют о предшествующей рождению ребенка активации клеток моноцитарно-макрофагального ряда, преобладанию влияния провоспалительных цитокинов и сниженном потенциале действия противовоспалительных цитокинов в пуповинной крови здоровых доношенных новорожденных по сравнению со взрослыми донорами, что сопровождается физиологическим лейкоцитозом и нейтрофилизом в пуповинной крови [2,3,7,9]. Это может подтверждать имеющуюся в литературе гипотезу об участии высоких концентраций провоспалительных цитокинов и, в частности, ИЛ-1b в запуске акта родов на фоне комплексной гормональной и метаболической перестройки в организме матери. При исследовании концентраций ИЛ-1b и ИЛ-8 в сыворотке пуповинной крови было установлено, что у большинства здоровых детей эти уровни очень малы и не превышают порога чувствительности используемых иммуноферментных тест-систем (<20 пг/мл). Так, ИЛ-8 в концентрации 120 пг/мл был обнаружен только в одной из 12 исследованных проб (8,3%), а ИЛ-1b в концентрациях 190-480 пг/мл - в 3 из 12 сывороток пуповинной крови (25%). Это, в целом, совпадает с результатами исследования данных цитокинов у здоровых доноров [2,3,7,11,14], может быть объяснено коротким периодом полураспада большинства цитокинов в циркуляции (минуты) и наличием в сыворотке крови природных ингибиторов.

В процессе и сразу после рождения ребенка устанавливается тесный контакт стерильного организма малыша с экзогенными антигенами. В первую очередь, микроорганизмами заселяются слизистые оболочки респираторного, желудочно-кишечного, урогенитального трактов и кожа. Сложные процессы перераспределения клеток иммунной системы между органами иммунопоза, сосудистым руслом и тканями, изменения функциональной активности клеток по сравнению с периодом внутриутробного развития отражаются в происходящем на первой неделе жизни физиологическом перекресте в формуле крови. Он проявляется резким уменьшением количества циркулирующих нейтрофилов, возрастанием доли моноцитов, эозинофилов и перераспределением субпопуляций лимфоцитов (увеличением в циркуляции доли CD4⁺ лимфоцитов, уменьшением процента цитотоксических CD8⁺ лимфоцитов, возрастанием иммунорегуляторного индекса) [1,5,12,15]. Также, было установлено, что к 3-7 дням жизни ребенка повышаются плазменные уровни про- и противовоспалительных цитокинов. Известно, что в течении первой недели жизни в физиологических условиях происходит достоверное увеличение плазменных уровней ИЛ-1b и TNF-a, что можно объяснить активацией клеток моноцитарно-макрофагальной природы в ответ на воздействие большого количества экзогенных антигенов (бактерии, вирусы, грибковая флора и т.д.) в раннем периоде адаптации [1,5].

На 3-7 сутки жизни сывороточные концентрации ИЛ-8 (46-200 пг/мл) определялись в периферической крови 3 из 17 обследованных здоровых детей (17,7%), а ИЛ-1b в концентрациях 1100-1400 пг/мл - в 33,3%. Т.е., не отмечалось увеличения частоты регистрации и возрастания концентрации ИЛ-8 в сыворотке крови здоровых доношенных новорожденных при физиологическом течении раннего периода постнатальной адаптации, а

учащение выявления и рост сывороточной концентрации ИЛ-1b с 82,5±46,6 пг/мл в пуповинной крови до 415,6±209,3 пг/мл в периферической крови на 3-7 сутки жизни были статистически недостоверными. Вот такие результаты были получены [1,2,6,8].

Факт увеличения уровней изучаемых медиаторов на первой неделе жизни подкрепляется наличием прямой достоверной корреляционной связи средней силы между ними и постнатальным возрастом (сутками жизни). Для концентрации ИЛ-1b и TNF-a в плазме крови $r=0.5$, $p<0.01$; для концентрации ИЛ-4 $r=0.6$; $p<0.01$; для TGF-b₁ $r=0.43$; $p<0.01$; для сывороточной концентрации ИЛ-1b $r=0.43$; $p<0.05$. Корреляция данных показателей с гестационным возрастом отсутствовала. Сывороточная концентрация ИЛ-8 не коррелировала ни с гестационным, ни с постнатальным возрастом. Увеличение концентраций ИЛ-1b и TNF-a на первой неделе жизни сопровождалось достоверным изменением уровней белков острой фазы воспаления (БОФ) в сыворотке периферической крови здоровых доношенных новорожденных детей. Так, сывороточные концентрации а₁-антитрипсина, С-реактивного белка, С₄ компонента комплемента, IgA в раннем периоде адаптации у здоровых детей достоверно не изменялись. По-видимому, процесс распознавания и представления антигенов, сопровождающийся повышением выработки моноцитами провоспалительных цитокинов, оказывает влияние и на усиление синтеза гепатоцитами БОФ. В ходе первичного иммунного ответа изменяется белковосинтетическая функция печени, о чём свидетельствует снижение сывороточного уровня преальбумина, расходуются собственные Ig M и полученные трансплацентарно IgG [5,8,11,14]. Однако, несмотря на увеличение количества провоспалительных медиаторов, в физиологических условиях не отмечается клинических признаков системного воспаления, и дети выписываются домой в удовлетворительном состоянии к концу первой недели жизни. Развитию системной воспалительной реакции, по-видимому, препятствует увеличение синтеза лимфоцитами противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и TGF-b₁ и запускаемые ими механизмы обратной связи. О существовании системы саморегуляции и баланса про- и противовоспалительных цитокинов в раннем периоде адаптации свидетельствует наличие сильной прямой корреляционной связи между показателями спонтанной продукции TNF-a и ИЛ-4 ($r=0.96$; $p<0.001$). Кроме того, с увеличением сывороточных концентраций ИЛ-1b у здоровых новорожденных детей увеличивается пролиферация T лимфоцитов CD3⁺ ($r=0.77$; $p<0.001$), возрастает доля CD4⁺ хелперов/индукторов в периферической крови ($r=0.71$; $p<0.001$), часть из которых являются продуцентами ИЛ-4 и TGF-b₁, уменьшается процент цитотоксических CD8⁺ лимфоцитов ($r=-0.8$; $p<0.001$) и естественных киллерных клеток CD16⁺ ($r=-0.74$; $p<0.001$). Так, возрастание уровня продукции ИЛ-4 сопровождается снижением абсолютного количества лейкоцитов периферической крови детей ($r=-0.64$; $p<0.001$), сегментоядерных нейтрофилов ($r=-0.64$; $p<0.001$), моноцитов ($r=-0.7$; $p<0.01$) как клеток, запускающих и реализующих воспаление. Таким образом, в раннем периоде постнатальной иммунной адаптации здоровых доношенных новорожденных детей на фоне высокой антигенной нагрузки отмечается развитие лабораторных признаков

системной воспалительной реакции, что выражается в достоверном увеличении сывороточных и плазменных концентраций провоспалительных цитокинов и изменении уровней белков острой фазы воспаления. Выявленные лабораторные признаки в физиологических условиях не сопровождаются развитием клинической картины системного воспаления, инфекционного токсикоза и полиорганной недостаточности.

По-видимому, поддержание иммунного гомеостаза в организме новорожденного ребенка обеспечивается целым комплексом иммунных механизмов обратной связи, важнейшими среди которых являются активация, пролиферация и дифференцировка клеток-продуцентов противовоспалительных цитокинов, и увеличение концентраций противовоспалительных медиаторов в сыворотке крови. Баланс про- и противовоспалительных цитокинов, в конечном счете, может являться ключевым моментом,

обуславливающим клиническое состояние ребенка. Нарушение его при развитии осложнений неонатального периода может приводить к клинической манифестации заболеваний.

Выводы. В раннем периоде адаптации у здоровых новорожденных детей на фоне высокой антигенной нагрузки отмечаются лабораторные признаки системной воспалительной реакции.

В физиологических условиях это не сопровождается развитием клинической картины системного воспаления, инфекционного токсикоза и полиорганной недостаточности. Поддержание иммунного гомеостаза новорожденного ребенка обеспечивается комплексом механизмов обратной связи и увеличением концентраций противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови. Баланс про- и противовоспалительных цитокинов может являться ключевым моментом, обуславливающим клиническое состояние ребёнка.

Список литературы/Iqtiboslar/References

1. Bussmann N, EL-Khuffash A. What is the Most Efficacious Pharmacological Therapy for Patent Ductus Arteriosus Closure in Premature Infants? *Ir Med J.* 2018 Oct 11;111(9) :816.
2. Hockel K, Diedler J, Neunhoffer F, Heimberg E, Nagel C, Schuhmann MU. Time spent with impaired autoregulation is linked with outcome in severe infant/paediatric traumatic brain injury. *Acta Neurochir (Wien).* 2017 №v;159(11) :2053-2061.
3. Hartnell G, Bétrémieux P, Modi N. Body water content of extremely preterm infants at birth. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2000 Jul;83(1): F56-9.
4. Hart J, Vemgal P, Cocks-Drew S, Harrison C, Andersen C. The relation between inferior vena cava oxygen saturation, superior vena cava flow, fractional oxygen extraction and haemoglobin affinity in sick newborns: a pilot study. *Acta Paediatr* (2006) 95:50–5. doi:10.1111/j.1651-2227.2006.tb02179.x
5. Coton SJ, Nazareth I, Petersen I. A cohort study of trends in the prevalence of pregestational diabetes in pregnancy recorded in UK general practice between 1995 and 2012. *BMJ Open.* 2016 Jan 25;6(1):e009494.
6. Muhari-Stark E, Burckart GJ. Glomerular Filtration Rate Estimation Formulas for Pediatric and Neonatal Use. *J Pediatr Pharmacol Ther.* 2018 №v-Dec;23(6) :424-431.
7. Murki S, Singh J, Khant C, Kumar Dash S, Oleti TP, Joy P, Kabra NS. High-Flow Nasal Cannula versus Nasal Continuous Positive Airway Pressure for Primary Respiratory Support in Preterm Infants with Respiratory Distress: A Randomized Controlled Trial. *Neonatology.* 2018;113(3) :235-241.
8. de Oliveira CF, Troster EJ, Carcillo JA. A beneficial role of central venous oxygen saturation-targeted septic shock management in children: follow the pediatric story, Not only the adult story*. *Pediatr Crit Care Med* (2014) 15:380–2.
9. Mouncey PR, Osborn TM, Power GS, Harrison DA, Sadique MZ, Grieve RD, et al. Trial of early, goal-directed resuscitation for septic shock. *N Engl J Med* (2015) 372:1301–11. doi:10.1056/NEJMoa1500896
10. Padbury JF, Polk DH, Newnham JP, Lam RW. Neonatal adaptation: greater sympathoadrenal response in preterm than full-term fetal sheep at birth. *Am J Physiol.* 1985 Apr;248(4 Pt 1):E443-9.
11. Prezioso G, Giannini C, Chiarelli F. Effect of Thyroid Hormones on Neurons and Neurodevelopment. *Horm Res Paediatr.* 2018;90(2) :73-81.
12. ProCESS Investigators, Yealy DM, Kellum JA, Huang DT, Barnato AE, Weissfeld LA, et al. A randomized trial of protocol-based care for early septic shock. *N Engl J Med* (2014) 370:1683–93. doi:10.1056/NEJMoa1401602
13. Sankar J, Sankar MJ, Suresh CP, Dubey NK, Singh A. Early goal-directed therapy in pediatric septic shock: comparison of outcomes "with" and "without" intermittent superior venacaval oxygen saturation monitoring: a prospective cohort study*. *Pediatr Crit Care Med* (2014) 15:e157–67.
14. Stark MJ, Clifton VL, Wright IM. Microvascular flow, clinical illness severity and cardiovascular function in the preterm infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* (2008) 93:F271–4. doi:10.1136/adc.2007.123539