

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПУПОВИННОЙ КРОВИ У ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ГИПОКСИЧЕСКИМИ СОБЫТИЯМИ

Панченко А.С., Панова М.С.

(Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия)

Резюме.

Цель исследования: оценить иммунологические показатели пуповинной крови у новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию и/или асфиксию при рождении.

Материалы и методы. В исследование включено 134 доношенных новорожденных ребенка, которые в ходе исследования были разделены на 2 группы: 1 группа (n=81) – дети, перенесшие внутриутробную гипоксию и/или асфиксию при рождении; 2 группа (n=51) – контрольная группа, дети, родившиеся с нормальной оценкой по шкале Апгар и не испытавшие внутриутробную гипоксию. Методом твердофазного иммуноферментного анализа проведено исследование уровня интерлейкинов в пуповинной крови у доношенных новорожденных детей перенесших внутриутробную гипоксию и/или асфиксию в родах.

Результаты. Маркерами перенесенных гипоксических событий (в сравнении с группой контроля) явились повышение уровня таких провоспалительных цитокинов, как интерлейкин (ИЛ)-1 β (41,20 пг/мл \pm 84,97), ИЛ-6 (97,27 пг/мл \pm 158,64), ИЛ-8 (118,81 пг/мл \pm 147,95).

Заключение. Повышенный уровень ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 в пуповинной крови у детей с гипоксическими событиями может быть использован как маркер возникновения ишемического поражения головного мозга, что в будущем позволит прогнозировать возможные исходы и разработать ряд рекомендаций по снижению негативного гипоксического воздействия на здоровье доношенных новорожденных детей.

Ключевые слова: новорожденные дети; асфиксия; внутриутробная гипоксия; цитокины.

FEATURES OF THE CONTENT OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN UMBILICAL CORD BLOOD IN FULL-TERM INFANTS WITH HYPOXIC EVENTS

Panchenko A.S., Panova M.S.

(Chita State Medical Academy, Chita, Russia)

Summary.

Aim: to evaluate the immunological indices of umbilical cord blood in newborns who underwent intrauterine hypoxia and / or birth asphyxia.

Methods. The study included 134 full-term newborns, which in the course of the study were divided into 2 groups: Group 1 (n = 81) – children who underwent intrauterine hypoxia and / or birth asphyxia; Group 2 (n = 51) – the control group, children born with a normal Apgar score and who did not experience intrauterine hypoxia. The method of solid-phase enzyme immunoassay conducted a study of the level of interleukins in umbilical cord blood in full-term newborns who underwent intrauterine hypoxia and / or asphyxia during labor.

Results. Markers of transferred hypoxic events (in comparison with the control group) were increased levels of such pro-inflammatory cytokines as interleukin (IL) – 1 β (41.20 pg / ml \pm 84.97), IL-6 (97.27 pg / ml \pm 158, 64), IL-8 (118.81 pg / ml \pm 147.95).

Conclusion. Increased levels of IL-1 β , IL-6, IL-8 in cord blood in children with hypoxic events can be used as a marker for the occurrence of ischemic brain damage, which in the future will make it possible to predict possible outcomes and develop a number of recommendations for reducing the negative hypoxic effects on health full-term newborns.

Key words: newborns; asphyxia; intrauterine hypoxia; cytokines.

Несмотря на стремительно развивающиеся успехи в оказании помощи беременным и новорожденным детям, проблема гипоксии и асфиксии всё же остается актуальной. Патологическое течение беременности, родов и/или рождение ребенка в асфиксии может привести в будущем к развитию таких заболеваний, как детскому церебральному параличу, эпилепсии, минимальной мозговой дисфункции, а также к смерти [2,3,4].

Значимая роль в патогенезе гипоксических событий на молекулярном уровне принадлежит про- и противовоспалительным цитокинам, высвобождаемых в центральной нервной системе микроглией.

Согласно исследованиям как отечественных, так и зарубежных авторов, значительное увеличение содержания некоторых ИЛ, таких как ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, а также их дисбаланс с противовоспалительными цитокинами, таким как ИЛ-4, ИЛ-10, коррелирует с тяжестью ишемического повреждения головного мозга и предопределяет неблагоприятный неврологический исход у детей [4,5,6,7].

Цель исследования: оценить иммунологические показатели пуповинной крови у новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию и/или асфиксию при рождении.

Материалы и методы

В исследование включено 134 доношенных новорожденных ребенка, рожденных в Забайкальском краевом перинатальном центре и перинатальном центре краевой клинической больницы г.Чита в период с 2017 по 2018 г.

При проведении исследования строго соблюдались требования биомедицинской этики. Один из родителей детей подписывал добровольное информированное согласие на забор крови для исследования. Протокол был одобрен локальным этическим комитетом Читинской государственной медицинской академии.

В ходе исследования дети разделены на 2 группы: 1 группа (n=81) – дети, перенесшие внутриутробную гипоксию и/или асфиксию при рождении, 2 группа (n=51) – контрольная группа, дети, родившиеся с нормальной оценкой по шкале Апгар и не испытавшие внутриутробную гипоксию. Дети первой группы рождены на сроке гестации 37-42 недели (39,37 \pm 0,91). Дети второй группы рождены на сроке гестации 37-41 недели (39,43 \pm 0,81).

При определении уровня цитокинов в пуповинной крови ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 использовался иммуноферментный анализатор «Expert 96» и метод твердофазно-

го иммуноферментного анализа, тест-системы фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск), выражается в пикограмм/мл (пг/мл).

Статистическую обработку выполняли с использованием прикладных программ Excel и Statistica 10. Выборки проверялись на нормальность с использованием критерия Шапиро-Уилка. Данные исследования представлялись в виде средних (M) и их стандартных отклонений (SD). При сравнении групп использовались критерии Манна-Уитни (U), критерий χ^2 с поправкой Йетса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На сегодняшний день изучено множество патогенетических механизмов развития гипоксических повреждений головного мозга, которые, в конечном счете, приводят к отеку и гибели нейронов головного мозга [4]. Гипоксическое состояние у новорожденных детей может массово инициировать воспалительную реакцию. Активированные микроглиальные клетки и астроциты продуцируют различные иммуоактивные молекулы, такие как цитокины, факторы роста и хемоаттрактанты. Микроглиальный фагоцитоз способствует восстановлению тканевого гомеостаза путем очистки от некротических клеток [8,9,12]. Цитокины, выпущенные активированной микроглией, могут осуществлять как провоспалительное, так и противовоспалительное действие. Они представляют собой универсальную регуляторную систему медиаторов, контролирующую процессы пролиферации и дифференцировки клеточных элементов в кроветворной, иммунной и других гомеостатических системах организма [3].

Таблица 1

Содержание цитокинов (пг/мл), M \pm SD в пуповинной крови у детей с гипоксическими событиями

Параметры	Основная группа (n=83)	Контрольная группа (n=51)	Уровень значимости (p)
ИЛ-1 β	41,20 \pm 84,97*	6,48 \pm 12,59	p = 0,002
ИЛ-6	97,27 \pm 158,64*	17,40 \pm 38,40	p = 0,000...
ИЛ-8	118,81 \pm 147,95*	31,69 \pm 79,43	p = 0,000...

Примечание: *Критерий Манна-Уитни, уровень статистической значимости при $p < 0,05$.

Результаты иммунологического обследования детей (табл. 1) показали, что в основной группе новорожденных средние показатели концентрации ИЛ-1 β составили 41,20 пг/мл \pm 84,97, что в 6 раз превышало показатели клинически здоровых детей (6,48 пг/мл \pm 12,59), ($p < 0,05$). ИЛ-1 β синтезируется моноцитами, макрофагами, дендритными клетками, НК-клетками, В-лимфоцитами, эпителиальными, эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудов. Клетками мишенями для него являются клетки сосудистой системы, гипоталамуса и печени [3,7].

ИЛ-1 β повышает проницаемость сосудистой стенки, хемотаксис, фагоцитоз, гемопоэз, цитотоксическую и бактерицидную активность. Эндотелиальные клетки сосудов человека под влиянием ИЛ-1 β секретируют полипептиды, подобные тромбоцитарному фактору роста, которые стимулируют клеточную миграцию и пролиферацию и вызывают освобождение сосудистых медиаторов воспаления. Данный механизм в свою очередь, при условии повышенного уровня указанных цитокинов, очень часто приводит к диссеминированной

внутрисосудистой коагуляции [10,11]. Существенное повышение ИЛ-1 β в пуповинной крови у детей с гипоксическими событиями в отличие от контрольной группы детей подтверждает литературные данные о его местном высвобождении в головном мозге после первоначального гипоксического повреждения и играет большую роль в нейроразрушении, а также способствует выработке оксида азота, являющегося одним из основных регуляторов тонуса мозговых сосудов [4,8,11]. ИЛ-1 β стимулирует выработку ИЛ-8, повышение которого по результатам исследования Г.Н. Чистяковой и соавт. (2014), является прогностически значимым явлением возникновения перинатального поражения ЦНС [5]. Уровень ИЛ-8 оказался в 3 раза выше (118,81 пг/мл \pm 147,95) в основной группе, чем в группе контроля (31,69 пг/мл \pm 79,43), $p < 0,05$. Он продуцируется моноцитами, макрофагами, эндотелиальными клетками. ИЛ-8 является самым ранним провоспалительным цитокином. Данный хемокин вызывает мобилизацию, активацию и дегрануляцию нейтрофилов, а также ангиогенез и хемотаксис лимфоцитов [1,7].

Уровень ИЛ-6 также был значимо выше в первой группе (97,27 пг/мл \pm 158,64), чем во второй (17,40 пг/мл \pm 38,40), $p < 0,05$. ИЛ-6 представляет собой провоспалительный цитокин, медиатор межклеточного взаимодействия Т- и В-лимфоцитов. Он состоит из двух рецепторов трансмембранных субъединиц. Одна специфически связывает ИЛ-6, а вторая, так называемая gp130, является общей для таких цитокинов, как ИЛ-10, цилиарный нейротрофический фактор. ИЛ-6 обладает многочисленным спектром биологического действия, основными из которых являются индукция восстановительных механизмов и активация иммунной защиты. Клетками мишенями являются гепатоциты, В-лимфоциты, плазматические клетки, CD4+ Т-лимфоциты, моноциты. Продуцируют ИЛ-6 многие клетки: Т-лимфоциты, макрофаги, эндотелиальные клетки, микроглия и астроциты. Чем выше уровень ИЛ-6 у новорожденных детей после перенесенной асфиксии, тем тяжелее поражение ЦНС и выше вероятность повторных судорог [6,7,10]. Согласно данным многих литературных источников уровни таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-1 β и ИЛ-6, в мозге отражают степень гипоксически-ишемического поражения головного мозга [6,8,10].

Вывод. Повышенный уровень ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 в пуповинной крови у детей с гипоксическими событиями может быть использован как маркер возникновения ишемического поражения головного мозга, что в будущем позволит прогнозировать возможные исходы и разработать ряд рекомендаций по снижению негативного гипоксического воздействия на здоровье доношенных новорожденных детей.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Исследователь несет полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и иных взаимодействиях. Автор принимал участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Автор не получал гонорар за исследование.

Материал поступил в редакцию: 27.03.2019 г.

ЛИТЕРАТУРА

- Грязнова М.А., Хамнуева Л.Ю., Давыдова А.В., Орлова Г.М. Скорость клубочковой фильтрации и уровень интерлейкина 8 у пациентов с болезнью Грейвса // Клиническая и экспериментальная тиреология. 2013. Т. 9. №4. С.46-51.
- Иутинский Э.М., Дворянский С.А., Дрожжина М.Б.

Течение беременности и родов у женщин с фетоплацентарной недостаточностью // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Медицина. Фармация. 2014. №18. С.54-57.

- Князева А.С., Страмбовская Н.Н., Терешков П.П.

Концентрация интерлейкинов в плазме крови больных хронической ишемией головного мозга, носителей генетического полиморфизма некоторых противовоспалительных цитокинов // Молекулярная медицина. 2015. №6. С.48-52.

4. Перлман Д.М. Неврология. Проблемы и противоречия в неонатологии / Под ред. Р.А. Полина. М.: Логосфера, 2015. 392 с.

5. Чистякова Г.Н., Ремизова Л.Л., Газиева Л.А. и др. Про- и противовоспалительные медиаторы у новорожденных с перинатальной патологией // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2014. Т. 59. №2. С.66-70.

6. Якорнова Г.В., Ремизова И.И., Чистякова Г.Н., Устюжаница Л.С. Динамика провоспалительных цитокинов у детей, родившихся у женщин с осложненной беременностью, в зависимости от течения раннего периода адаптации // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015. Т. 60. №4. С.50-56.

7. Хаитов Р.М. Иммунология. Структура и функции

иммунной системы: Учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 280 с.

8. Chaparro-Huerta V., Flores-Soto M.E., Merin Sigala M.E., et al. Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns // *Pediatr Neonatol*. 2017. Vol. 58. №1. P.70-76.

9. Doll D.N., Barr T.L., Simpkins J.W. Cytokines: their role in stroke and potential use as biomarkers and therapeutic targets // *Aging Dis*. 2014. Vol. 5. №5. P.294-306.

10. Massaro A.N., Wu Y.W., Bammler T.K., Comstock B., et al. Plasma biomarkers of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy // *J Pediatr*. 2018. Vol. 194. P.67-75.

11. Murray K.N., Parry-Jones A.R., Allan S.M. Interleukin-1 and acute brain injury // *Front Cell Neurosci*. 2015. Vol. 6. №9. P.18.

12. Placha K., Luptakova D., Baciak L., et al. Neonatal brain injury as a consequence of insufficient cerebral oxygenation // *NeuroEndocrinol*. 2016. Vol. 37. №2. P.79-961.

REFERENCES

1. Gryaznova M.A., Khamnueva L.Yu., Davydova A.V., Orlova G.M. Glomerular filtration rate and interleukin 8 level in patients with Graves' disease // *Clinical and experimental thyroidology*. 2013. Vol. 9. №4. P.46-51. (in Russian)

2. Iutinskij Eh.M., Dvoryanskij S.A., Drozhkina M.B. The course of pregnancy and childbirth in women with fetoplacental insufficiency // *Nauchnyye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Meditsina. Farmatsiya*. 2014. №18. P.54-57. (in Russian)

3. Knyazeva A.S., Strambovskaya N.N., Tereshkov P.P. Concentration of interleukines in blood plasma in patients with chronic cerebral ischemia – carriers of anti-inflammatory cytokines genes polymorphisms // *Molekulyarnaya meditsina*. 2015. №6. P.48-52. (in Russian)

4. Perlman D.M. Neurology: Neonatology Questions and Controversies / Ed. R.A. Polin. Moscow: Logosfera, 2015. 392 p. (in Russian)

5. Chistyakova G.N., Remizova L.L., Gazieva L.A., et al. Pro- and anti-inflammatory mediators in neonates with perinatal pathology // *Russian journal of Perinatology and Pediatrics*. 2014. Vol. 59. №2. P.66-70. (in Russian)

6. Yakornova G.V., Remizova I.I., Chistiakova G.N., Ustieiantseva L.S. Time course of changes in proinflammatory

cytokines in infants born to women with complicated pregnancy in relation to the course of an early adaptation period // *Russian journal of Perinatology and Pediatrics*. 2015. Vol. 60. №4. P.50-56. (in Russian)

7. Haitov R.M. Immunology. Structure and functions of the immune system. Textbook. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 280 p. (in Russian)

8. Chaparro-Huerta V., Flores-Soto M.E., Merin Sigala M.E., et al. Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns // *Pediatr Neonatol*. 2017. Vol. 58. №1. P.70-76.

9. Doll D.N., Barr T.L., Simpkins J.W. Cytokines: their role in stroke and potential use as biomarkers and therapeutic targets // *Aging Dis*. 2014. Vol. 5. №5. P.294-306.

10. Massaro A.N., Wu Y.W., Bammler T.K., Comstock B., et al. Plasma biomarkers of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy // *J Pediatr*. 2018. Vol. 194. P.67-75.

11. Murray K.N., Parry-Jones A.R., Allan S.M. Interleukin-1 and acute brain injury // *Front Cell Neurosci*. 2015. Vol. 6. №9. P.18.

12. Placha K., Luptakova D., Baciak L., et al. Neonatal brain injury as a consequence of insufficient cerebral oxygenation // *NeuroEndocrinol*. 2016. Vol. 37. №2. P.79-961.

Информация об авторах:

Панченко Александра Сергеевна – д.м.н., доцент, заведующая кафедрой пропедевтики детских болезней, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Читинская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, SPIN-код: 9552-2350, e-mail: sashawomen@mail.ru; Панова Марина Сергеевна – ассистент кафедры пропедевтики детских болезней, SPIN-код: 5492-6424, e-mail: merik2002@mail.ru

Information About the Authors:

Panchenko Aleksandra S. – Doctor of medical Sciences, Professor, head of Department of propaedeutics of children's diseases, Chita State MediAcademy, Chita, Russia, SPIN-code: 9552-2350, e-mail: sashawomen@mail.ru; Panova Marina S. – Assistant Professor, Department of propaedeutics of children's diseases, Chita State Medical Academy, Chita, Russia, SPIN-code: 5492-6424, e-mail: merik2002@mail.ru