Устьянцева Л.С., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Рюмин В.Е.
**Особенности врожденного иммунитета детей с бронхолегочной дисплазией,
родившихся в сроке сверхранних преждевременных родов с экстремально низкой
массой тела, в зависимости от стадии ретинопатии недоношенных**

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и
младенчества» Минздрава России
(Россия, Екатеринбург)

doi: 10.18411/trnio-10-2021-100

Аннотация

С целью оценки показателей врожденного иммунитета детей с бронхолегочной дисплазией, рожденных в сроке сверхранних преждевременных родов, сформировавших ретинопатию недоношенных, проведено динамическое обследование 33 новорожденных. Выявлены значимые различия иммунного статуса глубоко недоношенных детей с бронхолегочной дисплазией и ретинопатией в различные стадии заболевания.

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных, бронхолегочная дисплазия, экстремально низкая масса тела, иммунитет.

Abstract

In order to assess the indices of innate immunity of children with bronchopulmonary dysplasia, born at the time of very early preterm labor, who formed retinopathy of prematurity, a dynamic examination of 33 newborns was carried out. Significant differences in the immune status of deeply premature infants with bronchopulmonary dysplasia and retinopathy at various stages of the disease were revealed.

Keywords: retinopathy of prematurity, bronchopulmonary dysplasia, extremely low birth weight, immunity.

Ретинопатия недоношенных (РН), как и бронхолегочная дисплазия (БЛД) является наиболее распространенной патологией у детей с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ), ухудшающей качество жизни [1]. Гипоксия, внутриутробные инфекции, дефицит сурфактанта, гены, отвечающие за регуляцию, дифференциацию, рост и альвеоляризацию легочной ткани, васкулогенез, гипероксигенация организма приводят к прогрессированию воспалительного процесса на системном и локальном уровнях, а так же оказывают повреждающее действие на сосудисто-капиллярную сеть, включая сосуды сетчатки и легких, что влияет на формирование БЛД и РН.

По данным литературы дети с меньшей массой тела и сроком гестации имеют большую вероятность формирования тяжелой РН и БЛД [2]. По международной классификации (2005) согласно локализации процесса и его протяженности выделяют пять стадий активной РН [3], начиная с I-II стадии с последующим самопроизвольным регрессом до IV и V стадии с частичной или полной отслойкой сетчатки. При этом наибольшую угрозу для зрения представляет «пороговая» (III) стадия заболевания, при развитии которой процесс становится практически необратимым и требует незамедлительного проведения лазерного вмешательства. Повышенное внимание к РН обусловлено высоким риском развития слепоты и инвалидности по зрению, вследствие выхаживания детей, ранее считавшимися инкурабельными [4].

Многие аспекты этиопатогенеза РН и БЛД остаются спорными и факторы, потенциально влияющие на развитие патологии, являются объектом многочисленных исследований во всем мире [5]. В частности, в последнее время пристальное внимание уделяется иммунологическому аспекту патогенеза РН и активному поиску новых возможностей прогнозирования развития и течения РН [6, 7] на фоне течения БЛД.

Цель. Выявить особенности врожденного иммунитета детей с БЛД различной степени тяжести, родившихся в сроке сверхранних преждевременных родов с ЭНМТ, в зависимости от стадии РН до достижения постконцептуального возраста (ПКВ) 38-40 недель.

Материалы и методы. Проспективное исследование включало в себя оценку иммунологических показателей пуповинной и периферической крови детей с БЛД различной степени тяжести, родившихся в сроке сверхранних преждевременных родов (22-27 недель). Дети, сформировавшие впоследствии РН, в ходе исследования были подразделены на группы в зависимости от степени тяжести: 1 группа – РН III «пороговой» стадии (n=14), 2 группа – РН I-II стадии (n=19). Иммунофенотипирование моноцитов осуществляли методом проточной лазерной цитофлуориметрии на анализаторе «FACS Calibur» фирмы «Becton Dickinson» (США) с использованием наборов моноклональных антител того же производителя, конъюгированных с флюоросцеинизотиоцианатом (FITC) и фикоэритрином (PE). Определяли абсолютное и относительное количество лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4/CD8^+$, $CD19^+$, $CD16/CD56^+$), количество активированных моноцитов ($CD14^+CD64^+$, $CD14^+HLA-DR^+$, $CD11b/CD14^+$, $CD71/CD14^+$). Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакетов прикладных программ «Excel» и Statistica 6. Проверку на нормальность распределения статистических показателей проводили с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. При соответствии данных нормальному распределению значения количественных признаков представляли в виде $M \pm SD$, где M – среднее значение количественного признака, SD – стандартное отклонение среднего. Различия между группами устанавливали при помощи критерия χ^2 (качественные), критерия Стьюдента (количественные). При отклонении распределения от нормального данные представляли в виде медианы (ME), нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го перцентилей, LQ-UQ). Сравнение количественных признаков проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни. Уровень значимости межгрупповых различий принимали равным 0,05.

Результаты исследования. Дети, развивших впоследствии РН III стадии, не имели значимых различий в гестационном возрасте ($26,0 \pm 0,96$ против $26,4 \pm 0,77$ недель, $p > 0,05$), однако, масса тела у этих детей была статистически значимо ниже ($802,071 \pm 112,4$ г против $897,3 \pm 88,5$ г, $p_{1-2} = 0,014$).

При исследовании популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов пуповинной крови у детей с ЭНМТ вне зависимости от гестационного возраста и стадии РН достоверных отличий не выявлено (табл.1).

Таблица 1

Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов пуповинной крови детей, сформировавших РН, ME (P25-P75)

Показатели	1 группа	2 группа
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	4,7 (4,03-6,05)	5,0 (4,24-7,41)
Лимфоциты, %	68 (59-77,5)	74 (61,75-75,75)
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	3,44 (2,11-3,54)	3,78 (2,63-4,55)
$CD3$, %	43 (38,0-44,0)	34,5 (33,0-35)
$CD3$, $10^9/\text{л}$	1,27 (0,73-1,31)	1,6 (1,42-2,4)
$CD19$, %	12 (10-14)	9 (6-12)
$CD19$, $10^9/\text{л}$	0,34 (0,24-0,43)	0,41 (0,22-0,78)
$CD4$, %	28 (26-31)	26,5 (23,75-37,25)
$CD4$, $10^9/\text{л}$	0,78 (0,47-0,87)	1,31 (1,18-1,79)
$CD8$, %	14 (13-15-14,75)	8,5 (5,75-13,0)
$CD8$, $10^9/\text{л}$	0,47 (0,20-0,53)	0,36 (0,26-0,66)
$CD16/56$, %	2,0 (1-3)	4,0 (2,75-6,0)
$CD16/56$, $10^9/\text{л}$	0,04 (0,03-0,10)	0,12 (0,11-0,37)
$CD4/CD8$	2,3/8 (1,86-3,11)	3,55 (2,99-4,33)
$CD25/CD4$, %	3 (3-6)	2 (1,25-2,0)
$CD25/CD4$, $10^9/\text{л}$	0,1 (0,08-0,12)	0,09 (0,06-0,24)

При исследовании врожденного звена иммунитета пуповинной крови у детей, родившихся в сроке 22-27 недель, сформировавших РН III стадии как абсолютных, так и относительных показателей CD64/CD14 ($p_{1-2}=0,01$, $p_{1-2}=0,0001$, табл.2), что свидетельствовало об уменьшении адгезивной способности моноцитов.

Таблица 2

Маркеры активации моноцитов пуповинной крови недоношенных детей, сформировавших впоследствии РН, МЕ (P25-P75)

Показатели	1 группа	2 группа	p
CD11b/CD14, %	31,0(15,0-60,0)	50(11,0-68)	
CD11b/CD14, абс.	0,09(0,03-0,09)	0,14(0,09-0,19)	
CD64/CD14, %	8,0 (7,5-16,75)	42,0 (20,0-44,0)	$p_{1-2}=0,0001$
CD64/CD14, $10^9/л$	0,05 (0,05-0,10)	0,19 (0,11-0,24)	$p_{1-2}=0,01$
CD14/HLA-DR, %	39,0 (15,0-58,0)	25,0 (15,75-42,75)	
CD14/HLA-DR, $10^9/л$	0,09 (0,08-0,12)	0,12 (0,08-0,17)	
CD71/CD14, %	11,0 (10,5-12,5)	13,0 (7,75-19,75)	
CD71/CD14, $10^9/л$	0,12 (0,12-0,14)	0,18 (0,11-0,25)	

Важнейшее место в иммунной системе принадлежит, как известно, CD4⁺ лимфоцитам (Т-хелперы), определяющим и направляющим характер иммунного ответа при инфекционной агрессии. При достижении 1 месяца жизни у детей, родившихся в сроке сверхранних преждевременных родов, сформировавших РН III стадии, отмечалось значимое снижение Т-хелперов ($p_{1-2}=0,014$) и В-клеток ($p_{1-2}=0,002$) (табл.3).

Таблица 3

Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови недоношенных детей в возрасте 1 месяца жизни, сформировавших РН, МЕ (P25-P75)

Показатели	1 группа	2 группа	p
Лейкоциты, $10^9/л$	6,3 (4,4-8,55)	7,5 (6,05-10)	$P_{1-2}=0,008$
Лимфоциты, %	59 (49-63)	60 (46-63)	
Лимфоциты, $10^9/л$	3,84 (2,14-5,8)	4,43 (3,65-6)	
CD3, %	52,5 (49,75-53,75)	57,5 (48,75-67)	
CD3, $10^9/л$	1,80 (1,3-2,41)	2,41 (2,06-3,09)	
CD19, %	8 (6-10)	10,5 (7,5-16,25)	$P_{1-2}=0,013$
CD19, $10^9/л$	0,17 (0,1-0,27)	0,51 (0,2-0,71)	$P_{1-2}=0,002$
CD4, %	31,5 (24,5-39,25)	42,0 (39,0-52,0)	$P_{1-2}=0,08$
CD4, $10^9/л$	1,23 (0,79-1,65)	1,86 (1,5-2,34)	$P_{1-2}=0,014$
CD8, %	16 (13,5-23)	18,5 (14,75-22,25)	
CD8, $10^9/л$	0,66 (0,4-1,07)	0,67 (0,57-1,03)	
CD16/56, %	17,5 (10,25-24,75)	10,5 (9,25-14,75)	
CD16/56, $10^9/л$	0,53 (0,22-0,84)	0,45 (0,34-0,66)	
CD4/CD8	1,71 (1,08-3,05)	2,41 (1,99-3,03)	
CD25/CD4, %	5 (4-6)	6 (5-7)	
CD25/CD4, $10^9/л$	0,18 (0,11-0,19)	0,25 (0,18-0,42)	$P_{1-2}=0,016$

Снижение абсолютного числа активированных клеток с рецептором CD25⁺/CD4⁺ также выявлено в этой группе новорожденных ($p_{1-2}=0,016$).

В возрасте 1 месяца жизни у недоношенных 1-й группы сохранялось достоверное снижение абсолютного и относительного количества CD64⁺/CD14⁺ -клеток ($p_{1-2}=0,01$) (табл.4) по сравнению с показателями детей, сформировавших более легкие стадии РН.

Таблица 4

Маркеры активации моноцитов периферической крови детей в возрасте 1 месяца жизни, сформировавших РН, МЕ (P25-P75)

Показатели	1 группа	2 группа	p
CD11b/CD14, %	51(42-55,5)	68 (49-82)	
CD11b/CD14, абс.	0,43 (0,38-0,47)	0,5(0,29-0,75)	
CD64/CD14, %	27,0 (20,25-37,75)	56,5(34,0-73,0)	$p_{1-2}=0,01$
CD64/CD14, $10^9/л$	0,25 (0,13-0,30)	0,35 (0,22-0,65)	$p_{1-2}=0,01$

CD14/HLA-DR, %	70 (67,5-73,25)	66,5 (48,5-83,25)	
CD14/HLA-DR, $10^9/\text{л}$	0,43 (0,38-0,49)	0,54 (0,29-0,88)	
CD71/CD14, %	10 (3,75-15,5)	14 (9,75-17)	
CD71/CD14, $10^9/\text{л}$	0,08 (0,07-0,11)	0,09 (0,065-0,16)	

К ПКВ 38-40 недель в периферической крови детей 1-й группы сохраняется сниженное количество CD4-клеток ($p_{1-2}=0,05$) и В-лимфоцитов ($p_{1-2}=0,017$) на фоне повышения NK-клеток ($p_{1-2}=0,01$) (табл.5).

Таблица 5

Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови недоношенных детей в ПКВ 38-40 недель, сформировавших РН, МЕ (P25-P75)

Показатели	1 группа	2 группа	p
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	6,2 (4,98-6,74)	6,45 (5,99-7,91)	
Лимфоциты, %	74 (67,5-81,5)	64,5 (60,25-69,25)	
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	4,14 (3,63-4,62)	4,8 (3,59-5,09)	
CD3, %	50,5 (40,5-56)	56 (50-59)	
CD3, $10^9/\text{л}$	1,78 (1,6-2,37)	2,36 (2,03-2,73)	
CD19, %	24 (16,25-32)	28 (19-30)	
CD19, $10^9/\text{л}$	1,21 (0,63-1,3)	0,68 (0,58-1,53)	$p_{1-2}=0,002$
CD4, %	27,5 (23,5-34,25)	39 (33-44)	$p_{1-2}=0,05$
CD4, $10^9/\text{л}$	1,07 (0,97-1,48)	1,71 (1,23-1,85)	$p_{1-2}=0,07$
CD8, %	20,5 (12,75-26,25)	15 (15-19)	
CD8, $10^9/\text{л}$	0,72 (0,5-1,07)	0,62 (0,49-0,76)	
CD16/56, %	20 (13-23,5)	9 (6-15)	
CD16/56, $10^9/\text{л}$	0,78 (0,51-1)	0,3 (0,29-0,59)	$p_{1-2}=0,010$
CD4/CD8	1,65 (1,26-1,94)	2,6 (2,11-2,8)	
CD25/CD4, %	4 (3,75-5)	5 (4-6)	$p_{1-2}=0,03$
CD25/CD4, $10^9/\text{л}$	0,16 (0,14-0,18)	0,21 (0,18-0,25)	$p_{1-2}=0,010$

Численность CD25/CD14 как в абсолютном, так и в относительном количестве остается на прежнем сниженном уровне ($p_{1-2}=0,01$, $p_{1-2}=0,03$).

Для детей, родившихся в сроке ранних преждевременных родов, сформировавших РН III стадии, напротив, характерно повышение численность В-клеточного звена иммунитета ($p_{1-2}=0,017$).

К постконцептуальному возрасту 38-40 недель среди маркеров активации моноцитов отмечалось повышение численности CD14/HLA-DR ($p_{1-2}=0,017$) и снижение абсолютного количества CD14⁺CD64⁺ моноцитов ($p_{1-2}=0,01$) у детей 1 группы (табл.6).

Таблица 6

Маркеры активации моноцитов периферической крови детей в ПКВ 38-40 недель, сформировавших РН, МЕ (P25-P75)

Показатели	1 группа	2 группа	p
CD11b/CD14, %	77,0(75,0-77,25)	72 (68-76)	
CD11b/CD14, абс.	0,24 (0,22-0,26)	0,39(0,25-0,78)	
CD64/CD14, %	22 (17,5-32,5)	29 (22,0-56,5)	
CD64/CD14, $10^9/\text{л}$	0,10 (0,09-0,12)	0,35 (0,25-0,63)	$p_{1-2}=0,01$
CD14/HLA-DR, %	81 (77-83,25)	67 (57,25-69,75)	$p_{1-2}=0,017$
CD14/HLA-DR, $10^9/\text{л}$	0,32 (0,28-0,55)	0,35 (0,27-0,5)	
CD71/CD14, %	11,5 (9,75-16,5)	15 (13-23)	
CD71/CD14, $10^9/\text{л}$	0,07 (0,03-0,09)	0,09 (0,08-0,14)	

Выводы. Таким образом, проведенные нами исследования показали, что глубоко недоношенные дети с ЭНМТ с БЛД, родившихся в сроке сверхранних преждевременных родов, сформировавшие к ПКВ 38-40 недель пороговую РН (III стадии) характеризуются при рождении более низкой массой тела, чем новорожденные с РН I-II стадии. К возрасту 1 месяца жизни у детей, развивших пороговую ретинопатию, отмечается снижение

численности В-лимфоцитов, Т-хелперов и регуляторных $CD4^+CD25^+$ -клеток. Иммунорегуляторный индекс ($CD4/CD8$) снижен. В ПКВ 38-40 недель количество В-клеток увеличивается и не отличается от аналогичного показателя детей с РН I-II стадии, однако, сохраняется сниженное содержание Т-хелперов и $CD4^+CD25^+$ -лимфоцитов.

В показателях врожденного иммунитета регистрируется снижение уровня экспрессии молекул адгезии на моноцитах пуповинной крови ($CD64CD14$), которое сохраняется в течение неонатального периода и в ПКВ 38-40 недель. Также в этот период у детей с пороговой ретинопатией отмечается повышенное содержание $CD14^+HLA-DR^+$ – моноцитов и абсолютное количество натуральных киллеров.

Статья подготовлена при финансовой поддержке Минобрнауки, грант Президента Российской Федерации № МК-1140.2020.7.

1. Smith L.E.H. Pathogenesis of retinopathy of prematurity. Semin. Neonatol. 2003; 8: 469–73
2. Катаргина Л.А. Ретинопатия недоношенных, современное состояние проблемы и задачи организации офтальмологической помощи недоношенным детям в РФ. Российская педиатрическая офтальмология. 2012; 1: 5–7
3. International Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. The international classification of retinopathy of prematurity revisited. Arch. Ophthalmol. 2005; 123: 991–9
4. Aikawa H., Noro M. Low incidence of sight-threatening retinopathy of prematurity in infants born before 28 weeks gestation at a neonatal intensive care unit in Japan. Tohoku J. Exp. Med. 2013; 230 (3): 185–90
5. Катаргина Л.А., Слепова О.С., Демченко Е.Н., Осипова Н.А. Роль системного дисбаланса цитокинов в патогенезе ретинопатии недоношенных Российская педиатрическая офтальмология, № 4, 2015 С.16-19
6. Sood B.G., Madan A., Saha Sh., Schendel D., Thorsen P., Skogstrand K. et al. Perinatal systemic inflammatory response syndrome and retinopathy of prematurity. Pediatr. Res. 2010; 67 (4): 394–400
7. Silveira R.C., Fortes Filho J.B., Procianny R.S. Assessment of the contribution of cytokine plasma levels to detect retinopathy of prematurity in very low birth weight infants. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2011; 52 (3): 1297–301

Ходосевич А.А., Ефременко Е.С.

Оценка выраженности дисмутации супероксидного анион-радикала в воспалительную фазу течения полнослойного повреждения кожи

*ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет»
(Россия, Омск)*

doi: 10.18411/trnio-10-2021-101

Аннотация

В работе представлены сведения об уровне активности супероксиддисмутазы раневого отделяемого при эксперименте по формированию полнослойного повреждения кожных покровов. Показана тенденция к уменьшению активности исследуемого показателя. Обсуждаются вероятные факторы, определяющие модификацию энзиматической активности.

Ключевые слова: кожа, рана, повреждение, травма, хирургия, воспаление, свободные радикалы, антиоксиданты, ферменты, СОД.

Abstract

The paper presents information about the level of superoxide dismutase activity in an experiment on the formation of full-layer damage to the skin. The tendency to decrease the activity of the studied indicator is shown. The factors determining the modification of enzymatic activity are discussed.

Keywords: skin, wound, injury, trauma, surgery, inflammation, free radicals, antioxidants, enzymes, SOD.