

Угнетение функций нейтрофилов при пневмонии у недоношенных новорожденных

Л.Н. Журавлева, В.И. Новикова

Витебский государственный медицинский университет

Depression of neutrophil function during pneumonia in premature newborns

L.N. Zhuravleva, V.I. Novikova

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Аннотация

Целью нашей работы было определение показателей НСТ и киллинга кандид нейтрофилами у недоношенных новорожденных с пневмониями.

Материал и методы. Обследованы 36 новорожденных с неонатальными пневмониями (12 детей с врожденной пневмонией и 24 с респираторным дистресс-синдромом), 15 недоношенных новорожденных без патологии респираторного тракта.

Результаты. В группе с неблагоприятным исходом пневмонии был исходно повышен уровень НСТ-позитивных нейтрофилов в спонтанных условиях. Однако их уровень был снижен после стимуляции продигиозаном, что указывало на недостаточность резерва активации. Выявлена положительная корреляция между тяжестью течения пневмонии и снижением уровня киллинга кандид нейтрофилами к 10-12-ым суткам жизни у пациентов с неблагоприятным исходом пневмонии ($r=0,48$, $p<0,001$). Тест киллинга кандид нейтрофилами характеризовался хорошей диагностической ценностью ($AUC=0,839$) и высокой специфичностью (76,9%) при достаточной чувствительности (73,1%). Данный тест позволяет прогнозировать течение пневмонии.

Ключевые слова

Новорождённые, недоношенные дети, пневмония, фагоцитоз, НСТ тест.

Введение

У новорожденных детей одной из ведущих причин заболеваемости является патология респираторного тракта [1, 2]. Среди недоношенных новорожденных лидирующую роль среди заболеваний дыхательной системы занимают пневмонии и респираторный дистресс-синдром [1, 2, 3]. С одной стороны, внедрение современных методов лечения патологии бронхотрахеального тракта у новорожденных позволило значительно

Summary

The aim of our work was to determine the indicators of NBT and candida killing neutrophils in preterm newborns with pneumonia.

Material and methods. We examined 36 newborns with neonatal pneumonia (12 children with congenital pneumonia and 24 newborns with respiratory distress syndrome complicated by pneumonia), 15 premature infants without respiratory tract pathology.

Results. In the group with an unfavorable outcome of pneumonia, the level of NBT-positive neutrophils was initially increased in spontaneous conditions. However, its level was reduced after stimulation with prodigiosan, which indicated that the activation reserve was insufficient. A positive correlation between the severity of pneumonia and a decrease of candida killing neutrophils was found by the 10-12th days of life in patients with an unfavorable outcome of pneumonia ($r = 0.48$, $p < 0.001$). The neutrophil Candida killing test was characterized by good diagnostic value ($AUC = 0.839$) and high specificity (76.9%) with sufficient sensitivity (73.1%). This test makes it possible to predict the progress of pneumonia.

Keywords

Newborns, premature newborns, pneumonia, phagocytosis, NBT test.

снизить летальность новорожденных [1, 4]. Но отмечается увеличение частоты врожденных пневмоний с последующим формированием бронхолегочной дисплазии [5, 6].

Важнейшими клетками врожденного иммунитета у новорожденных являются нейтрофилы, которые фагоцитируют и лизируют бактерии [3, 4, 7]. Недостаточность этих функций нейтрофилов служит одной из главных причин инфекций у новорожденных [8, 9, 10]. Функция нейтрофилов

определяет состояние противомикробного иммунитета [11, 12].

Одним из методов изучения функций нейтрофилов *in vitro* является их способность восстанавливать нитросиний тетразолий в формазан (НСТ-тест) [7, 8].

С другой стороны, важным показателем функции нейтрофилов является их киллинговая активность [13, 14, 15]. Нейтрофилы вовлекаются в воспалительные реакции при помощи цитокинов и хемокинов в очаг поражения легких, а в легочном инфильтрате является отличительной чертой раннего ответа на инфицирование [16, 17, 18].

Роль нейтрофилов у детей в неонатальный период остаются малоизученными, а диагностика функций фагоцитарной системы при пневмониях в зависимости от возраста и перинатального статуса не разработана [19, 20, 21, 22].

Целью нашего исследования было определение поглотительной функции, метаболической активности в НСТ-тесте и киллинга кандид нейтрофилами у недоношенных новорожденных с пневмониями.

Материалы и методы

Данное исследование выполнялось в 2017-2018 годах в родильных домах города Витебска и отделениях новорожденных и интенсивной терапии Витебского областного детского клинического центра. Под нашим наблюдением находилось 36 новорожденных с неонатальными пневмониями (12 пациентов с врожденной пневмонией и 24 – с респираторным дистресс-синдромом и пневмонией), группу сравнения составили 15 недоношенных новорожденных без этих синдромов. Дети обеих групп были недоношенными с гестационным сроком от 27 до 36 недель.

Исследованы лейкоциты и сыворотка крови новорожденных на 10-12 день их жизни.

Активность нейтрофилов клеток оценивали по показателям спонтанного и индуцированного НСТ-теста по проценту формазанположительных клеток. Индекс стимуляции позволяет определить резерв активации нейтрофилов. Стимулятором служил продигозан в концентрации 20 мг/мл [7, 12].

Поглотительную активность нейтрофилов крови определяли путем подсчета процента нейтрофилов, поглотивших стафилококки, после добавления их взвеси к лейкоцитам [7, 10].

Киллинг *Candida albicans* нейтрофилами оценивали после добавления суспензии кандид к лейкоцитам крови и последующей инкубации данной смеси в течение 30 мин. Процент убитых кандид

подсчитывали после лизиса нейтрофилов и окраски кандид 0,1% раствором метиленовой синьки [7]. Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли по поглощению стафилококков [7].

Статистическую обработку материала проводили с использованием стандартного пакета прикладных программ «Statistica 6.0». При проведении статистического анализа мы использовали ранговый корреляционный анализ по Спирмену, а также применяли ROC-анализ с расчетом AUC, точек отсечения с чувствительностью и специфичностью.

Проведено общеклиническое и клинико-лабораторное обследование новорожденных. Дети с пневмониями были недоношенными с гестационным возрастом от 27 до 36 недель, массой тела при рождении 920-2380 грамм, после осложненной беременности. Данной группе детей проводили искусственную вентиляцию легких, а 15 детей находились на ИВЛ после рождения.

Дети с пневмониями были разделены на две подгруппы: 1-я – 24 ребенка с благоприятным исходом заболевания, 2-я (n=12) – с неблагоприятным. Контрольная (3-я) группа включала относительно здоровых недоношенных (34-36 неделя гестации) (n=15) без признаков пневмонии и дыхательной недостаточности, 11 детей контрольной группы (75%) родились от матерей с неблагоприятным протеканием беременности.

После анализа полученных данных мы не выявили достоверных различий показателей крови в группе детей с неонатальными пневмониями (лейкоцитоза, сдвига лейкоцитарной формулы влево и также повышения СРБ). Показатель СРБ был незначительно повышен в группах детей с РДС и пневмонией.

У новорожденных с пневмониями отмечалось угнетение функций нейтрофилов при сравнительном анализе с контрольной группой (табл. 1).

Развитие пневмонии у новорожденных приводит к угнетению фагоцитарной функции нейтрофилов, указывая на ослабление врожденного иммунитета. При определении метаболической функции фагоцитов обнаружено повышение числа НСТ-позитивных нейтрофилов исходно в спонтанных условиях. Однако их уровень был снижен в индуцированном тесте с продигозаном, что указывало на недостаточность резерва активации (см. табл. 1). Причем снижение во второй группе было более выраженным ($p < 0,05$). Поглотительная активность стафилококков была снижена в обеих группах по сравнению с контрольной ($p < 0,05$). В обеих группах детей с пневмониями был значительно снижен киллинг

кандид нейтрофилами. Причем во второй группе с неблагоприятным исходом заболевания это снижение было более выраженным (см. табл. 1).

Проанализировав взаимосвязь между уровнем киллинга кандидат нейтрофилами в периферической крови, тяжестью состояния новорожденных и течением пневмонии, выявлена пози-

тивная корреляционная связь между тяжестью течения пневмонии и снижением уровня киллинга кандидат нейтрофилами крови к 10-12-ым суткам жизни у пациентов с неблагоприятным исходом пневмонии ($r=0,48, p<0,001$).

Проведен ROC-анализ теста киллинга кандидат с целью ранней диагностики пневмонии у новорожденных детей (рис. 1).

Таблица 1. Оценка состояния нейтрофильного фагоцитоза у недоношенных детей с неонатальными пневмониями

Показатели	Дети с неонатальными пневмониями (n=36)		Контрольная группа (3-я) (n=15)
	1 группа	2 группа	
НСТ, %, спонтанный	29,4 ± 5,9*	31,2 ± 6,7	16,5 ± 4,3
НСТ-индуцированный	1,6±0,37*	1,3±0,25^	2,5±0,52
Фагоцитоз, % поглощения стаф.	45,5±8,62*	45,5±8,62*	61,5± 9,8
Киллинг кандидат, %	21,1±4,9 *	15,3±5,2**	42,3±25,3

Примечание: * $p_{2-1}<0,05$, ** $p_{2-2}<0,01$, ^ $p_{1-2}<0,05$

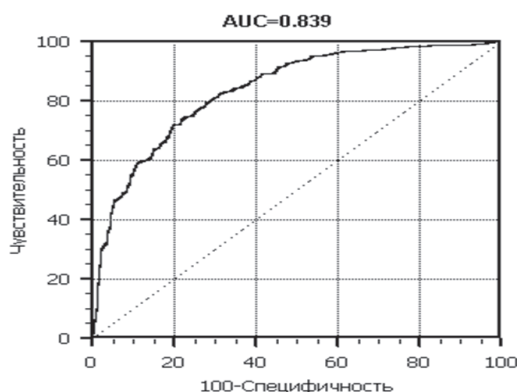


Рис. 1. Рос-кривая киллинга кандидат нейтрофилами при пневмонии у недоношенных новорожденных

Данный предиктор отличается значимым диагностическим уровнем ($AUC=0.839$) и высокой специфичностью (76,9%) при достаточной чувствительности (73,1%). Тест киллинга позволяет выявить развитие пневмонии, провести профилактику и назначить адекватное лечение.

Выводы

1. У новорожденных с пневмониями в неонатальном периоде, отмечается выраженное повышение спонтанной, но снижение индуцированной метаболической активности нейтрофилов. Это указывает на предельную активацию нейтрофилов. Одновременно уг-

нетается поглотительная активность нейтрофилов.

2. Снижение уровня киллинга кандидат нейтрофилами к 10-12-ым суткам жизни у пациентов указывает на неблагоприятное течение и исход заболевания. Поэтому оценка киллинга кандидат нейтрофилами может служить диагностическим критерием прогноза течения пневмоний.
3. Пневмонии у новорожденных развиваются на фоне недостаточности фагоцитарного звена иммунитета с персистирующей индукцией дополнительных изменений, что усиливает эту недостаточность.

Литература

1. Hooven T.A., Polin R.A. Pneumonia. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. 2017; 22(4):206-213.
2. Jobe A. H. What is RDS in 2012? *Early Hum. Dev.* 2012; 88(2): 42-44.
3. Costa S., Rocha G., Leito A. et al. Transient tachypnea of the newborn and congenital pneumonia: a comparative study. *J. of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2012; 25 (7): 992-994.
4. Edwards M.O., Kotecha S.J., Kotecha S. Respiratory Distress of the Term Newborn Infant. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2013; 14(1): 29-37.
5. Greenough A., Kotecha S., Vrijlandt E. Bronchopulmonary dysplasia: current models and concepts. *Eur. Respir. Monogr.* 2006; 37: 217-233.
6. Malleske D.T, Chorna O., Maitre N.L. Pulmonary sequelae and functional limitations in children and adults with bronchopulmonary dysplasia. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2018; 26: 55-59.
7. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Клиническая иммунопатология. М. 2009: 440с.
8. Honda T, Uehara T, Matsumoto G, Arai S, Sugano M. Neutrophil left shift and white blood cell count as markers of bacterial infection. *Clin Chim Acta*. 2016 Jun 1; 457:46-53.
9. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2013. Mar; 13(3): 159-75.
10. Rigby KM, DeLeo FR. Neutrophils in innate host defense against *Staphylococcus aureus* infections. *Semin Immunopathol*. 2012 Mar; 34(2): 237-59.
11. Супотницкий, М.В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий. *Биопрепараты*. 2011; 2: 4-44.
12. Герасимов И.Г., Калущая О.А. Кинетика реакции восстановления нитросинего тетразолия нейтрофилами крови человека. *Цитология*. 2000; 42(2): 160-165.
13. Sadik CD, Kim ND, Luster AD. Neutrophils cascading their way to inflammation. *Trends Immunol*. 2011 Oct; 32(10): 452-60.
14. Strydom N, Rankin SM. Regulation of circulating neutrophil numbers under homeostasis and in disease. *J Innate Immun*. 2013; 5(4): 304-14.
15. Yang F, Feng C, Zhang X, Lu J, Zhao Y. The Diverse Biological Functions of Neutrophils, Beyond the Defense Against Infections. *Inflammation*. 2017 Feb;40(1):311-323.
16. Navegantes KC, de Souza Gomes R, Pereira PA, Czaikoski PG, Azevedo CHM, Monteiro MC. Immune modulation of some autoimmune diseases: the critical role of macrophages and neutrophils in the innate and adaptive immunity. *J Transl Med*. 2017 Feb 15; 15(1): 36.
17. Delgado-Rizo V, Chau A, Sayedyahosseini S, García-Orozco A, Alvarado-Navarro A, Fa-futis-Morris M. Neutrophil Extracellular Traps and Its Implications in Inflammation: An Overview. *Front Immunol*. 2017 Feb 6;8:81.
18. Greenlee-Wacker MC. Clearance of apoptotic neutrophils and resolution of inflammation. *Immunol Rev*. 2016 Sep; 273(1): 357-70.
19. Ygberg S., Nilsson A. The developing immune system – from fetus to toddler. *Pediatrics*. 2012; 101(2): 120-127.
20. Firth M.A., Sheven P.E., Hodgins D.S. Passive and active components of neonatal innate immune defenses *Anim. Health. Res. Rev.* 2005; 6 (2): 143-58.
21. Kushnareva, M. The use of intravenous immunoglobulins in premature newborn children in hardware lung ventilation. *Int. J. Medical Science*. 2014; 5(2): 23-25.
22. Shen C., Zhang Q., Meyer J. Genetic Factors Contribute to Risk for Neonatal Respiratory Distress Syndrome among Moderately Preterm, Late Preterm, and Term Infants. *J. of Pediatrics*. 2016; 172: 69-74.

Сведения об авторах:

Журавлева Людмила Николаевна – Витебский государственный медицинский университет, кафедра педиатрии, доцент, кандидат медицинских наук. 210038 г. Витебск, пр-т Строителей, 22-1-208, тел. 80336754917, liudmilaz@mail.ru
Новикова Валентина Ивановна – Витебский государственный медицинский университет, зав. кафедрой педиатрии ФПК и ПК, профессор, доктор медицинских наук. 210015, ул. Шрадера, 3-6, тел. 80259466303.

Поступила 9.07.2019 г.

Российская Нейропсихиатрическая Ассоциация приглашает врачей различных специальностей, биологов, нейробиологов, ученых, преподавателей, студентов быть членами вновь созданной организации.

Кто может быть членом ассоциации:

Студенты: медицинских Вузов, биологических факультетов университетов.

Специалисты: клеточные биологи, цитологи, морфологи, геронтологи, биохимики, биологи, психологи, психиатры, неврологи, интересующихся психосоматикой, эндокринологи, иммунологи, кардиологи, нейрофизиологи, психофизиологи, офтальмологи, генетики, молекулярные биологи, инфекционисты, микробиологи, клинические и социальные психологи, нейрорадиологи, специалисты функциональной диагностики, специалисты ЛФК, нейробиологи, физиологи, специалисты по МРТ, КТ, ПЭТ, научные сотрудники, в область интересов которых входит изучение работы головного мозга, специалисты по искусственному интеллекту, педиатры, неонатологи, специалисты клинической лабораторной диагностики, рефлексотерапевты.

Российская Нейропсихиатрическая Ассоциация необходима для эффективного оказания помощи больным, страдающим нейропсихиатрическими расстройствами.

Учредители ассоциации рассматривают биологию, как своего рода «фундамент» и «цемент», необходимый для сближения психиатрии и неврологии, а также эффективного междисциплинарного взаимодействия.

Мы признаем единство биологического, психологического и социального в этиологии, патогенезе, диагностики и терапии нейропсихиатрических расстройств и будем способствовать сближению биологии, медицины, психологии и социологии в научно – исследовательской, образовательной и консультативной деятельности.

Мы понимаем, что искусственный характер разделения психиатрии и неврологии, затрудняет оказание помощи пациентам и способствует социальной стигме болезней.

Основная миссия Российской Нейропсихиатрической Ассоциации:

- оказание высококвалифицированной помощи больным, страдающим психическими и не-

врологическими болезнями на основе последних научно – технических достижений, как в этих дисциплинах, так и в других медицинских областях знания - эндокринологии, иммунологии, а также биологии, психологии и социологии;

- изменение обучения психиатров и неврологов на основе достижений современной нейробиологии и нейропсихологии;
- объединение психиатрии и неврологии в одну специальность;
- междисциплинарное взаимодействие со специалистами других областей знания.

Основными направлениями деятельности ассоциации мы считаем: научно – исследовательскую, образовательную и консультативно – экспертную работу. В то же время, мы планируем уделять внимание издательской, общественно – правовой, экономической и другим видам деятельности ассоциации, как общественного объединения.

В программе нашей деятельности развитие дистанционных, межрегиональных, отечественных и зарубежных связей. А также стажировки и обучение за рубежом в ведущих институтах и клиниках мира. На сайте ассоциации будет организована запись пациентов онлайн на прием к специалистам, входящим в РНА на бесплатной основе. Также информация о юридических лицах, благотворительных организациях, фондах, которые хотели бы принять участие в работе РНА.

Организационная форма ассоциации – некоммерческое партнерство.

Желающим активно участвовать в работе ассоциации просьба написать на электронный адрес:

С указанием: Ф.И.О, место работы, место учебы специальности, ученая степень, ученое звание (если есть), область интересов, телефон, электронный адрес

neiropshichass@yandex.ru

Сайт ассоциации: <https://neurobiopsychiatry.ru>