

Нейтрофильные внеклеточные ловушки при осложненном течении респираторных нарушений у новорожденных

А.Д. Голубева¹, В.И. Новикова¹, Ю.Н. Деркач²

¹ Витебский государственный медицинский университет

² Витебский областной детский клинический центр

Neutrophilic extracellular traps (NETs) in complicated course of respiratory disorders in newborns

A.D. Golubeva¹, V.I. Novikova¹, Yu.N. Derkach²

¹ Vitebsk State Medical University, Belarus

² Vitebsk Regional Children's Clinical Center, Belarus

Аннотация

Введение. Патология респираторного тракта в периоде новорожденности остается одной из лидирующих причин заболеваемости у детей. Респираторные нарушения приводят к тяжелым последствиям для последующего качества жизни ребенка. Поэтому, своевременная диагностика несёт решающее значение для оптимизации прогноза при респираторном дистресс-синдроме и врожденной пневмонии.

Целью работы была оценка выраженности образования нейтрофильных ловушек в периферической крови при пневмонии и респираторном дистресс-синдроме у новорожденных.

Материал и методы. Под нашим наблюдением находились 2 группы новорожденных: 35 новорожденных детей с неонатальными пневмониями и респираторным дистресс-синдромом и контрольную группу составили 15 «условно здоровых» новорожденных без патологии респираторного тракта.

Результаты. Было установлено, что пневмонии и респираторный дистресс-синдром протекают на фоне повышенного образования в периферической крови нейтрофильных внеклеточных ловушек, количество которых было достоверно больше, чем в контрольной группе (1,2 [0,8; 2,1] и 0,6 [0,3; 1,4] соответственно ($p=0,02$)). Процентное содержание в крови нейтрофильных внеклеточных ловушек также было выше в группе детей с респираторными нарушениями ($p=0,0005$). Выявлена корреляционная связь между тяжестью пневмонии и повышенным нетоза к 3-5-ым суткам жизни у недоношенных новорождённых. Процент нейтрофильных внеклеточных ловушек более 23% в сыворотке крови на третьи-пятые сутки жизни может служить дополнительным диагностическим критерием осложненного и неблагоприятного течения пневмонии и РДС у новорожденных.

Summary

Introduction. The pathology of the respiratory tract during the neonatal period remains one of the leading causes of morbidity in children. Respiratory disorders lead to severe consequences for the subsequent quality of life of the child. Therefore, early diagnosis of complicated course is critical for optimizing the prognosis in respiratory distress syndrome and congenital pneumonia.

The aim of the work was to assess the severity of the formation of neutrophil extracellular traps in the peripheral blood in pneumonia and respiratory distress syndrome in newborns.

Material and methods. We observed 2 groups of newborns: 35 newborns with neonatal pneumonia and respiratory distress syndrome, and the control group consisted of 15 "almost healthy" newborns without respiratory tract pathology.

Results. It was found that pneumonia and respiratory distress syndrome occur against the background of increased formation of neutrophil extracellular traps (NET) in the peripheral blood, the number of which was significantly greater than in the control group (1.2 [0.8; 2.1] and 0.6 [0.3; 1.4], respectively ($p=0.02$)). The percentage of NETs in the blood was also higher in the group of children with respiratory disorders ($p=0.0005$). A correlation was found between the severity of pneumonia and increased netosis by the 3-5th day of life in premature infants. The percentage of neutrophil extracellular traps of more than 23% in blood on the third-fifth day of life can be used as an additional diagnostic criterion for a complicated and unfavorable course of pneumonia and RDS in newborns.

Conclusion. Determination of the percentage of neutrophil extracellular traps in the peripheral blood makes it possible to determine the possibility of developing complications in respiratory disorders in newborns and to initiate adequate therapeutic and preventive measures in a timely manner.

Заключение. Определение процентного содержания нейтрофильных внеклеточных ловушек в периферической крови позволяет определить вероятность развития осложнений при респираторных нарушениях у новорожденных детей и своевременно начать адекватные лечебные и профилактические мероприятия.

Ключевые слова

Новорождённые, пневмония, респираторный дистресс-синдром, нейтрофильные внеклеточные ловушки, нетоз, недоношенные дети.

Патология респираторного тракта в периоде новорожденности, по-прежнему остается на одной из лидирующих позиций заболеваемости у детей. Данная патология приводит к тяжелым последствиям для последующего качества жизни ребенка. К таким последствиям можно отнести формирование бронхолегочной дисплазии, задержки физического и психического развития и др. [1, 2, 3].

В наше время достигнуты значительные успехи в оказании помощи новорожденным детям и продолжают совершенствоваться методики по выхаживанию недоношенных новорожденных. Внедряются современные вентиляционные стратегии, компенсирующие нарушения дыхательной функции у детей, с учетом вида респираторной патологии. Все шире используются методы неинвазивной вентиляции легких. Применяются методики малоинвазивного введения препаратов экзогенного сурфактанта, а также оптимизируется подход к выхаживанию детей, требующих медицинского вмешательства. Эти стратегии позволяют снизить долю отягощенных исходов заболеваний и время нахождения в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных [1, 2, 4].

Однако, несмотря на меры по профилактике осложнений и нежелательных исходов, респираторная заболеваемость в неонатальном периоде продолжает оставаться самой высокой [3, 5, 6]. На данную ситуацию оказывают влияние многие факторы. К ним можно отнести отягощенный соматический и акушерско-гинекологический анамнез (случаи прерывания предыдущих беременностей, инфекционную патологию генитальной и экстрагенитальной локализации, хроническую плацентарную недостаточность, хроническую гипоксию плода, преждевременные роды и др. [3, 4, 6].

Поскольку постановка диагноза неонатальной пневмонии имеет ряд особенностей и

Keywords

Newborns, pneumonia, respiratory distress syndrome, neutrophil extracellular traps, netosis, premature babies.

требует времени, зачастую пациентам антибактериальная терапия назначается несвоевременно [6, 7, 8], что влияет как на состояние новорожденного, клиническую эффективность лечения, так и на развитие отягощенного течения респираторных нарушений у новорожденных [9, 10, 11].

Недостаточная эффективность терапии пневмоний также объясняется наличием механизмов защиты от антибактериальных препаратов, что способствует формированию резистентных популяций микроорганизмов [7, 12, 13]. Поэтому крайне важно обоснованное, своевременное и достаточное применение антибактериального лечения.

Врожденный иммунитет играет особую роль в неонатальном периоде [11, 12, 14]. Поскольку лейкоциты новорожденных характеризуются функциональной незрелостью, дети подвержены предрасположенности к бактериальным инфекциям [10, 13]. Вместе с тем, функциональные особенности нейтрофильных гранулоцитов, а также их значение в иммунном ответе у детей неонатального периода, по-прежнему остаются малоизученными.

Целью работы была оценка выраженности образования нейтрофильных внеклеточных ловушек в периферической крови при пневмонии и респираторном дистресс-синдроме у детей периода новорожденности.

Материалы и методы

При предварительном клиническом испытании было обследовано 35 детей с неонатальными пневмониями и РДС (13 пациентов с врожденной пневмонией, 6 новорожденных с инфекцией специфичной для перинатального периода (ИСПП) с преимущественным поражением легких, 8 детей с респираторным дистресс-синдромом (РДС), осложненным пневмонией, и 8 детей с РДС).

Критерии включения в исследование:

- наличие предрасполагающих факторов патологии респираторного тракта у новорожденного;
- наличие у новорожденного клинических признаков дыхательных нарушений в раннем неонатальном периоде;
- наличие у новорожденного изменений на обзорной рентгенограмме грудной клетки (воздушная бронхограмма, усиление или нечеткость сосудистого рисунка, периваскулярный отек, рассеянные ателектазы легких, симптом «матового стекла», инфильтративные тени, пневмоторакс, пневмомедиастинум).

Из исследования исключались новорожденные при наличии:

- тяжелой врожденной или генетической патологии у новорожденного;
- коагуляционных нарушений у новорожденного;
- клинических и/или гистологических признаков хориоамнионита у матери новорожденного;
- отказа законных представителей ребенка от участия в исследовании.

Гестационный возраст составлял 28–36 недель, масса тела при рождении 940–2120 грамм, длина тела от 36 до 43 см. Мальчиков было 16, девочек – 19. Все дети исследуемой группы родились от осложненно протекавших беременностей (кольпит, токсикоз в I триместре, анемия, гестоз, угроза прерывания, эпизоды острых инфекционных болезней и хронических воспалительных заболеваний). Роды были самостоятельными в 14 случаях (40%), оперативными – кесарево сечение (недоношенность, тяжелый гестоз, преэклампсия, слабость родовой деятельности и т.д.) – в 21 случае.

Все новорожденные дети данной группы родились в тяжелом или средней тяжести состоянии, обусловленном дыхательной недостаточностью и перинатальным поражением ЦНС гипоксического генеза, нуждались в комплексе реанимационных мероприятий и интенсивной терапии. Все пациенты были взяты на ИВЛ на 1-2 сутки: 17 детей взяты на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) сразу после рождения, а 18 детей были взяты на ИВЛ в течение первых-вторых суток из-за нарастания дыхательной недостаточности, и находились на вспомогательной вентиляции средней длительностью $8,69 \pm 5,6$ дня, они получали инфузионную и посиндромную интенсивную медикаментозную терапию. По мере стабилизации витальных функций новорожденные были переведены в УЗ «Витебский областной детский клинический центр». Пациенты основной (исследуемой) группы были разделены на подгруппы:

I – 23 ребенка с благоприятным исходом заболевания, II – с осложненным исходом заболевания ($n=12$), таким как длительное нахождение на ИВЛ, продолжительная кислородозависимость, генерализация инфекционного процесса, формирование бронхолегочной дисплазии (БЛД).

Контрольная группа состояла из 15 новорожденных без патологии, гестационный возраст детей контрольной группы составил 33–38 недель, масса тела при рождении 1820–2960 грамм, длина от 38 до 49 см. Мальчиков было 9, девочек – 6. Всем детям с отклонениями в неврологическом статусе в периоде адаптации создавался охранительный режим, проводилась гемостатическая терапия, витаминотерапия.

Объектом иммунологического обследования была периферическая кровь пациентов. Забор крови проводили на 3-5 сутки жизни. В крови определялся процент образования нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ). Осуществлялся тщательный сбор соматического и акушерского анамнеза матерей, оценка факторов риска развития осложнений, клиническое наблюдение и лабораторное обследование, ультразвуковое исследование головного мозга, органов брюшной полости, биохимический анализ крови.

Статистическую обработку материала проводили с использованием стандартного пакета прикладных программ «Statistica 10.01». Для принятия решения о виде распределения количественного признака использовали критерий Шапиро-Уилка. Для переменных с нормальным распределением использовали такие параметры, как среднее значение и среднее квадратическое отклонение. Для описания распределения признака, которое отличается от нормального, использовали медиану и интерквартильный интервал. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Также использовали ROC-анализ с помощью статистической программы MedCalc версии 20.008.

Результаты исследования

У новорожденных с пневмониями и РДС была выявлена повышенная активность образования ловушек нейтрофильными гранулоцитами по сравнению с группой контроля.

Было установлено, что пневмонии и РДС протекают на фоне активации нетоза, проявляющейся обнаружением в периферической крови нейтрофильных внеклеточных ловушек, количество которых было достоверно больше, чем в контрольной группе ($p=0,02$; табл. 1). Процентное содержание в крови НВЛ также было выше в группе детей с респираторными наруше-

ниями ($p=0,0005$). При этом наиболее высокие уровни нейтрофилов в состоянии нетоза (61 и 68%) оказались у 2 детей с генерализованными инфекциями специфичными для перинатального периода и неблагоприятным течением воспалительного процесса (формирование БЛД). Также мы исследовали способность образования НВЛ у новорожденных в зависимости от исхода заболевания (табл. 2).

Наличие воспаления легочной ткани у новорожденных в раннем неонатальном периоде приводит к повышенному образованию ловушек нейтрофильными гранулоцитами, что способствует поддержанию иммуновоспалительных реакций с возможным отягощением процесса выздоровления.

В обеих группах детей с пневмониями был повышен процент НВЛ. Причем во второй группе с неблагоприятным исходом заболевания это повышение имело более выраженный характер (табл. 1).

Проанализировав взаимосвязь между долей активированных нейтрофилов в периферической крови, тяжестью общего состояния детей и характером течения пневмонии, выявлена корреляционная связь между тяжестью пневмонии и повышенным уровнем ловушкообразования нейтрофилами к 3-5-ым суткам жизни у пациентов II группы ($r=0,48$, $p=0,001$).

Был проведен ROC-анализ для метода определения вероятности развития осложнений при респираторных нарушениях у новорож-

Таблица 1. Оценка способности ловушкообразования нейтрофильными гранулоцитами у детей с пневмонией и РДС и контрольной группой

Параметр	Дети с респираторными нарушениями (n=35)	Контрольная группа (n=15)	p
Число нейтрофилов в поле зрения, абс	4,1 [2,2; 5,7]	5,9 [3,4; 10,7]	0,3
Число НВЛ, абс. в поле зрения	1,2 [0,8; 2,1]	0,6 [0,3; 1,4]	0,02
Число НВЛ, %	31,5 [15; 47]	9,5 [4; 17]	0,0005

Таблица 2. Способность образования внеклеточных нейтрофильных ловушек у новорожденных с пневмониями и РДС

Параметр	Дети с респираторными нарушениями (n=35)		p
	I группа (n=23) благоприятный исход	II группа (n=12) неблагоприятный исход	
Число нейтрофилов в поле зрения, абс	3,5 [1,8; 5,9]	2,9 [1,6; 4,7]	0,4
Число НВЛ, абс. в поле зрения	0,9 [0,6; 1,7]	1,6 [0,8; 2,9]	0,03
Число НВЛ, %	16,4 [11,2; 21,1]	25,5 [17; 49]	0,002

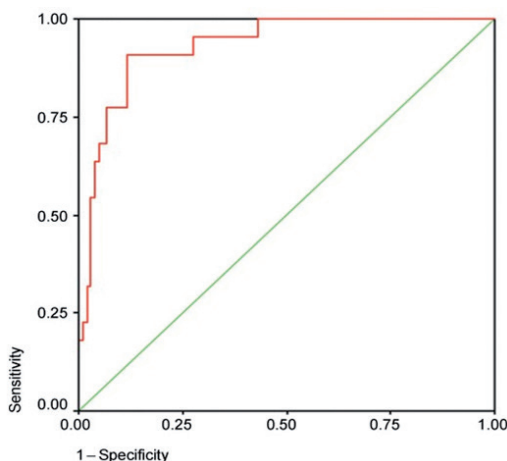


Рис. 1. ROC-кривая способности ловушкообразования нейтрофилами при пневмонии у новорожденных

денных детей. Процент НВЛ более 23% в сыворотке крови на третьи-пятые сутки жизни может служить дополнительным диагностическим критерием осложненного и неблагоприятного течения пневмонии и РДС у новорожденных.

Полученный параметр характеризуется хорошей диагностической ценностью (AUC=0.839) и высокой специфичностью (75,8%) при достаточной чувствительности метода. Данная методика позволяет определить вероятность развития осложнений при респираторных нарушениях у новорожденных детей и своевременно начать адекватные лечебные и профилактические мероприятия.

Таким образом, используемый метод определения образования НВЛ способствует возможности раннего определения вероятности развития осложнений при респираторных нарушениях у новорожденных детей, что позволяет своевре-

менно и целенаправленно назначать терапию, а также корректировать существующую стратегию лечения, тем самым повышать качество оказываемой помощи и уменьшать тяжесть течения заболевания с формированием бронхолегочной дисплазии и нарушений психомоторного развития. Своевременная терапия в итоге снижает время пребывания ребенка в учреждении здравоохранения, а также уменьшает финансовые затраты на лечение и реабилитацию пациента с респираторными нарушениями.

Заключение

Определение процентного содержания НВЛ в периферической крови позволяет определить вероятность развития осложнений при респираторных нарушениях у новорожденных детей и своевременно начать адекватные лечебные и профилактические мероприятия.

Литература

1. Антонов А.Г., Байбарина Е.Н., Балашова Е.Н. и др. Врожденная пневмония (клинические рекомендации). Неонатология: новости, мнения, обучение 2017; 4: 133–148.
2. Плехова Н.Г., Кодрашова Н.М., Гельцер Б.И. и др. Клеточно-молекулярные факторы врожденной защиты и их роль в патогенезе пневмонии. Иммунология 2017; 38(2): 124–129.
3. Свитич О.А., Омарова С.М., Алиева А.И. и др. Исследование микрофлоры и врожденного иммунитета слизистых оболочек верхних дыхательных путей при внутриутробном инфицировании плода и пневмонии новорожденных. Медицинская иммунология 2016; 2: 163–170.
4. Reuter S., Moser C., Baack M. Respiratory Distress in the Newborn. Pediatrics in Review 2014; 35: 417–427.
5. Alersandrovich Yu. Modern concepts of noninvasive respiratory support in neonatology. Медицина, 2015, 243 с.
6. Davies P., Spiller B., Beeton M. Relationship of proteinases and proteinase inhibitors with microbial presence in chronic lung disease of Prematurity. Pediatric lung disease. Thorax. 2010; 65: 246–251.
7. Nissen M.D. Congenital and neonatal pneumonia. Pediatric Respir. Rev. 2007; 8(3): 195–203.
8. Зубков В.В., Байбарина Е.Н., Рюмина И.И. Диагностическая значимость признаков пневмонии у новорожденных детей. Акушерство и гинекология. 2012; 7: 68–73.
9. Edwards M.O., Kotecha S.J., Kotecha S. et al. Respiratory Distress of the Term Newborn. Infant. Pediatric Respiratory Reviews 2013; 14 (1): 29–37.
10. Fumihiko N., Fuyu M., Masato I. et al. Management of bronchopulmonary dysplasia in Japan: A 10-year nationwide survey. J. Pediatrics and Neonatology. 2020: 272–278.
11. Матосова Е.В., Андрюков Б.Г. Антимикробные механизмы нейтрофилов как перспективные мишени для фармакологической модуляции неспецифической защиты организма. Журнал микробиол. 2018; 3: 96–105.
12. Joseph P. Respiratory Infection and the Impact of Pulmonary Immunity on Lung Health and Disease. Pulmonary Perspective. 2012 Jun.: 824–829.
13. Потапнев М.П., Гущина М., Мороз Л.А. Фенотипическая и функциональная гетерогенность субпопуляций нейтрофилов в норме и при патологии. Иммунология. 2019; 40(5): 85–96.
14. Ключина Ю.Б., Иванов Д.О., Желенина Л.А. Пульмонологический катамнез детей, находившихся на искусственной вентиляции легких в периоде новорожденности. Педиатр. 2014; 5(3): 16–21.
15. Hermansen C.L., Mahajan A. Newborn respiratory distress. Am. Fam. Physician. 2015; Dec 1. 92 (11): 994–1002.

Сведения об авторах:

Голубева Анжела Дмитриевна – учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра педиатрии №2, аспирант, моб. телефон +375333843053, nikiforova92_pediatria@mail.ru.
Новикова Валентина Ивановна – учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра педиатрии ПК и ПК, заведующий кафедрой, профессор, доктор медицинских наук, моб. телефон +375259466303.
Деркач Юрий Николаевич – УЗ «Витебский областной детский клинический центр», профессор, доктор медицинских наук.

Поступила 19.08.2021 г.