

## **ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ ПРИ СКЛАДНИХ ВАДАХ СЕРЦЯ У НОВОНАРОДЖЕНИХ**

Ємець І.М., Воробйова Г.М., Руденко Н.М., Федевич О.М.,  
Часовський К.С., Третьякова І.А., Василенко Л.І.,  
Ткаченко Я.В., Говсєєв О.Д., Макаренко М.В.

Державна Установа «Науково-практичний медичний центр дитячої кардіології та кардіохірургії МОЗ України» (м. Київ.)

Було проведено дослідження імунного статусу у 32 здорових новонароджених та 26 зі складними вадами серця у пуповинній крові. У групі зі складними вадами серця спостерігається дисфункція клітинно-гуморальної імунної відповіді. Виявлена системна активація ІЛ - 1 $\beta$ , 4,6,8 та ФНПау пуповинної крові новонароджених зі складними вадами серця, що обумовлює клінічний стан пацієнта.

**Ключові слова:** пуповинна кров, вроджені вади серця, імунний статус, Т-лімфоцити, глобуліни, цитокіни, ФНП-а.

Перший тиждень життя дитини є періодом радикальної функціональної, а в ряді випадків, і анатомічної перебудови всіх органів і систем. [1] Результатом змін, що відбуваються, є адаптація організму новонароджених до самостійної підтримки після народження без допомоги матері внутрішнього середовища. В процесі переходу із стерильних умов внутрішньоутробного розвитку в умови підвищеного антигенного навантаження роль імунної системи в ранній постнатальній адаптації має велике значення. [2] В результаті, в організмі новонародженого одночасно відбуваються різноспрямовані процеси: становлення адекватної імунної відповіді, підтримка імунологічної толерантності, стримування розвитку можливих алергічних, імунологічних реакцій, запалень. [3] Пацієнти першого року життя у імунологічному відношенні є перехідною ланкою від імуносупресивного періоду

новонародженості до періоду дозрівання тонких механізмів імунної відповіді.

Раніше нами було показано, що у 97% новонароджених дітей зі складними вадами серця, які підлягали хірургічному лікуванню, виражена імунологічна недостатність з розвитком імунодефіцитного синдрому. Висока частота інфікованості матері вірусами герпесу, цитомегаловірусу і *Toxoplasma gondii* є однією з причин порушення ембріогенезу серця, магістральних судин і порушення імунологічної реактивності плоду [4,5].

В даний час увагу дослідників привертають медіатори-цитокіни, які класично асоціюються з вродженим імунітетом. Цитокіни являють собою пептиди, які опосередковують міжклітинну взаємодію через специфічні рецептори на клітинній поверхні. Вони регулюють активацію, диференціювання, ріст, смерть і ефективні функції різних типів клітин, що робить їх важливими факторами в патофізіології розвитку серцево-судинних захворювань у новонароджених.

**Мета роботи:** вивчити особливості протизапальних цитокінів у новонароджених зі складними вродженими вадами серця у ранньому періоді постнатальної адаптації.

**Матеріали і методи.** Дослідження пуповинної крові проведено в 2-х групах новонароджених.

Велика протилежність значень нормальних показників імунологічного статусу (ІС) здорових новонароджених за літературними даними не дозволяє орієнтуватися на середньостатистичні дані та використовувати їх у діагностиці патологічних станів у дітей раннього віку. У зв'язку з цим принципово важливим є введення поняття норми функціонування імунної системи та нормативних показників ІС. Для дослідження брали кров із вени пуповини новонароджених. Контрольну групу для наших досліджень склали 32 новонароджених з Київського міського пологового будинку №5, народжених від практично здорових матерів з фізіологічним перебігом вагітності і пологів, другу групу – 26 немовлят із складними вродженими вадами серця, які у періоді новонародженості поступали до ДУ «НПМЦДКК» МОЗ України.

Для оцінки показників імунного статусу використовували еритроцитарне діагностичне покриття моноклональними антитілами проти CD3<sup>+</sup> (Т-лімфоцити), CD4 (Т-лімфоцитів хелпери/індуктори), CD8 (Т-лімфоцити, супресори/цитотоксичність), CD22 (В-лімфоцити). Для кількісного визначення імуноглобулінів класів Ig A, Ig G, Ig M у сироватці крові використовували метод радіальної імунодифузії по G. Mancini [6].

Спектор досліджуваних цитокінів вибраний виходячи з класичних уявлень про клітинні та гуморальні типи імунної відповіді. Кількісне визначення інтерлейкінів ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ4, ІЛ6 і фактор некрозу пухлини (ФНПа) здійснювали методом ІФА з використанням тест-системи Росії (С-Петербург) ТОВ «Протеїновий контур», вміст цитокінів виражали в пг/мл.

Статистична обробка наукових результатів проводилась методом варіаційної статистики та кореляційного аналізу – Micro Soft Exel 7.0 (Windows 97). Для виявлення достовірності відмінностей використовували критерії Стьюдента.

**Результати досліджень.** Імунологічний статус новонародженого залежить від імуногенетичних особливостей матері та батька, від особливостей перебігу вагітності і пологів. На момент народження органи імунної системи новонародженого досягають достатньої морфологічної зрілості, а потім проходить прискорена диференційовка лімфоїдної тканини дитини. Однак, у новонароджених домінує пасивний імунітет, що передається від матері. В той же час, з'являється синтез власних антитіл, наділених малою специфічністю.

Порівнюючи показники ІС новонароджених зі складними ВВС з контрольною групою ми виявили наявність лейкоцитозу у другій групі, підвищення якого відмічається в 1,4 рази, і лімфопенію в другій групі. Вміст Т-лімфоцитів (CD3) достовірно знижений в 1,7 рази в порівнянні з контролем ( $27,1 \pm 1,7\%$  при контролі  $46,8 \pm 4,3\%$ ), спостерігається дисфункція клітинної імунної відповіді. Результати досліджень представлені в таблиці 1.

Оцінка ІС новонароджених виявила достовірне пригнічення тимус-залежної

ланки імунітету. Зниження Т-лімфоцитів відображається на кількісних показниках, що характеризують Т-хелперні та Т-супресорні субпопуляції. Кількість Т-хелперів достовірно знижена в 1,8 разів в порівнянні з контрольною групою. Імунорегуляторний індекс (ІРІ) CD4/CD8 в групі новонароджених зі складними ВВС підвищений у порівнянні з контрольними даними  $1,86 \pm 0,19$  та  $1,43 \pm 0,17$  відповідно. Підвищення ІРІ можливо пов'язане з розвитком аутоімунного процесу у хворих зі складними ВВС.

При дослідженні гуморальної ланки ІС у новонароджених зі складними ВВС ми виявили достовірне зниження рівня В-лімфоцитів в порівнянні з контрольним у 1,2 рази. Дисфункція гуморального імунітету у новонароджених другої групи пов'язана з низьким рівнем Іg G. У новонароджених зі складними ВВС також спостерігається значне підвищення рівня Іg А до  $0,92 \pm 0,01$  г/л, ніж у контрольній групі ( $0,04 \pm 0,01$  г/л.). Підвищений рівень Іg М у новонароджених з ВВС пов'язаний, мабуть, не з істинним підвищенням їх синтезу, а зі змінами метаболізму у зв'язку з вираженими гемодинамічними порушеннями та гіпоксією. Визначення концентрації імунних комплексів (ІК) пуповинної крові були в 2,7 разів достовірно вищі в групі хворих зі складними ВВС ( $0,800 \pm 0,05$ ) ум. од., ніж в контрольній  $0,290 \pm 0,04$  ум. од. (табл. 1).

Таблиця 1

**Характеристика імунологічного статусу новонароджених  
зі складними вадами серця у ранньому періоді постнатальної адаптації.**

<b>Показники</b>	<b>Новонароджені здорові n = 32</b>	<b>Новонароджені з ВВС n = 26</b>
Лф%	$45.5 \pm 3.1$	$34 \pm 2.81^*$
CD%	$46.8 \pm 4.3$	$27 \pm 1.7^*$
CD 4%	$27.4 \pm 2.8$	$15.2 \pm 1.27^*$
CD 8%	$19.1 \pm 2.6$	$7.0 \pm 1.1^*$
CD 4/ CD 8%	$1.43 \pm 0.17$	$1.86 \pm 0,19$
CD 22%	$19.3 \pm 0.16$	$16 \pm 0.89^*$

Ig G г/л	11.9± 2.1	9.52± 0.83
Ig A г/л	0.04± 0.01	0.92±0.01 *
Ig M г/л	0.39± 0.06	0.82± 0.07*
ЦК ум.од.	0.290± 0.04	0.800± 0.05*
ФНПа пг/мл	17.1± 0.68	108.1± 3.23
ІЛ -1β пг/мл	16.36± 0.75	101.33± 15.73
ІЛ 4 пг/мл	61.5± 11.4	148.4± 14.21
ІЛ 6 пг/мл	31.2± 0.5	108.7± 30.0
ІЛ 8 пг/мл	10.2± 9	208.8± 1.78

Примітка: \*p = < 0,05

При дослідженні функціональних характеристик Т- і В- лімфоцитів у новонароджених зі складними ВВС виявлено, що РБТЛ у присутності ФГА, КонА лімфоцитарного знижена.

При вивченні РБТЛ з серцевим антигеном виявлено його підвищення в 1,4 рази у II групі у порівнянні з контролем, тобто у крові новонародженого зі складними ВВС, що взята з периферичних вен, виявлені лімфоцити, які реагують з серцевими антигенами. Це можна пояснити тим, що у пацієнтів досліджуваної групи вже з'являються лімфоцити з фіксованими на них антитілами до тканини серця, що підтверджує наявність помірної аутоалергії до тканин серця, яка розвивається в результаті порушень кровообігу, гіпоксії та розвитку серцевої недостатності.

Артеріальна гіпоксемія, гіпоксія тканин організму при складних ВВС негативно впливають на функціональну активність лімфоцитів як антитіло продуцентів.

До гуморальних факторів імунітету відносяться медіатори неімуноглобулінової природи – імуноцитокіни. Концентрація ІЛ-1β і фактор некрозу пухлини в сироватках пуповинної крові здорових новонароджених дітей були достовірно нижчі ніж в сироватці пуповинної крові у дітей зі складними ВВС. Враховуючи те,

що основними маркерами запального процесу вважаються ІЛ-1, 6, 8, ФНПа, рівень їх в пуповинній крові є важливим фактором гомеостазу в організмі новонароджених. Встановлено, наприклад, що ФНПа продукується клітинами амніона, ІЛ-6 – амніоном і хоріоном, що є природним імунітетом захисту організму від впливу шкідливих екзо- та ендофакторів та ініціює неспецифічну запальну відповідь. Відомо, що первинні медіатори цитокінової мережі є монокінами ІЛ 1, ІЛ 6, ФНПа. Вони включають каскад вторинних медіаторів, їх продукують як макрофаги, так і Т-хелпери. Цитокіни володіють поліфункціональністю, забезпечують етапи запального гомеостатичного та імунологічного процесів, тобто здатні виконувати імуностимулюючі /прозапальні та імуносупресивні /протизапальні функції. У новонароджених зі складними ВВС нами виявлено достовірне підвищення ІЛ-1 $\beta$ , 4, 6, 8, ФНПа, порівняно з контрольною групою. Визначення в пуповинній крові високого рівня цитокінів свідчить про порушення цитокінової системи, що спостерігається у хворих зі складними ВВС в зв'язку з розвитком у них довготривалої внутрішньоутробної гіпоксії та гіпоксії, пов'язаної з вадами серця. Розвиток аутоімунних процесів в організмі новонароджених спричинює дисбаланс цитокінової регуляції Т-хелперів 1,2 типів і впливає на ангиогенез. [7] Дисбаланс клітинної імунної відповіді і прозапальних цитокінів впливає на імунорегуляторні, ефекторні імуномеханізми, розкриває імунопатогенез неонатальних хвороб, зі складними ВВС в першу добу життя новонароджених.

Такі особливості імунної системи у новонароджених зі складними вадами серця роблять їх вразливими і призводять до зриву імунних захисних реакцій організму у ранньому періоді адаптації на першому тижні життя. Комплекс гематологічних та імунологічних змін є проявом стресу у новонароджених при нормальних фізіологічних пологах, а у хворих ці процеси ще більш ускладнюються.

Підвищення рівня протизапальних цитокінів пуповиною крові новонароджених, ІЛ- 1 $\beta$ , 4, 6, 8 та ФНП при довготривалій наявній гіпоксії в міокарді та персистенції імунної активації може призвести в подальшому до розвитку хронічної серцевої недостатності.

## **Висновки**

1. В імунограмі новонароджених зі складними ВВС в ранньому періоді адаптації в порівнянні зі здоровими дітьми є достовірне зниження Т-лімфоцитів CD4+ хелперів/індукторів, CD8 цитотоксичних лімфоцитів, і підвищення ІРІ (CD4/CD8), достовірне зниження В-лімфоцитів (CD22), збільшення ІК в 2,7 раз, що свідчить про імунологічну недостатність з розвитком аутоімунного процесу.
2. Виявлена цитокинова системна активація ІЛ-1 $\beta$ , 4, 6, 8 та ФНПа у пуповинній крові новонароджених зі складними ВВС відображає перинатальну гіпоксію та обумовлює клінічний стан пацієнтів.

## **Література**

1. Володін Н.Н. Особливості імунобіологічної адаптації у новонаджених дітей в нормі, при респіраторному дресс-синдромі та пневмоніях бактеріальної природи / Н.Н. Володін, М.В. Дектярева, Д.Н. Дектярев, Г.А. Асманова, К.К. Бахтикян и др. Міжнар. журн. On Immunorehabilitation 1999.11.82-91
2. Kavelars Altered Immune Function in Human Newborns after Prenatal Administration of Betamethosone: Enhanced Natural Killer Cell Activity and Decreased T-Cell Proliberation in Card Blood / A Kavellars, G. Van der Pompe, T M Bakker, P M van Hasselt, B Cals, T.H.A Visser, C Y Heijnen Pediatric Research 1999 45(3) p 1253-1262
3. Струнин О.В. Цитокиновий профіль при корекції вроджених вад серця в умовах екстрокорпоральної перфузії у дітей до року життя / О.В. Струнин, С. В. Сеников, Л.Г.Князьков та інші. Анестезіологія, реаніматологія та перфузіологія. 2005. №1; с 49-52
4. Воробьева А.М. Дослідження системи імунітету при вроджених вадах серця у новонароджених / А.М. Воробйова, Н.Н. Руденко, И.Н. Ємець, Т.Ю. Шляхтиченко, Т.В. Войтюк, Щорічник наукових праць асоціації серцево-судинних хірургів України 2001 вип. 9 с 75-80
5. Руденко Н.Н. Стан клітинного та гуморального імунітету у новонароджених зі складними вадами серця та вивчення факторів, що впливають на імунологічну

реактивність новонароджених – Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України 2000. Вип. №8 с. 219-223

6. G. Mancini /Immunochemical guantitation of antigens by single radical deffusion/ G. Mancini, A. Carbonara, A.Haremans I. Immunochemistry 1965, №1, №2 p. 235-254.
7. Reisenberger K. Cytokine and prastoglanolin prodaction by amnions eells in response to the addition of different bacteria / K. Reisenberger, C Egearter, M. Knofler et al Am. G. Obstet Gynecol. 1998; 78;1; 50-53

**ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ПРИ СЛОЖНЫХ  
ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКАХ СЕРДЦА У НОВОРОЖДЕННЫХ**  
**Емец И. Н., Воробъёва А. М., Руденко Н. Н., Федевич О. Н.,**  
**Часовский К. С., Третьякова И. А., Василенко Л. И.,**  
**Ткаченко Я. В., Говсеев Д. А., Макаренко М. В.**

Проведено исследование иммунного статуса в пуповинной крови у 32 здоровых новорожденных и 26 со сложными врожденными пороками сердца. В группе со сложными врожденными пороками сердца наблюдается дисфункция клеточно-гуморального иммунного ответа. Выявлена системная активация ИЛ - 1 $\beta$ , 4,6,8 та ФНО- $\alpha$  в пуповинной крови новорожденных со сложными врожденными пороками сердца.

**Ключевые слова:** пуповинная кровь, врожденные пороки сердца, иммунный статус, Т-лимфоциты, глобулины, цитокины, ФНО- $\alpha$ .

**CYTOKINE PROFILE IN NEONATES  
WITH COMPLEX CONGENITAL HEART DEFFECTS**  
**Yemets I. M., Vorobyova A. M., Rudenko N. M., Fedevich O. M.,**  
**Chasovskyi K. S., Tretyakova I. A., Vasylenko L. I.,**  
**Tkachenko Y. V., Govseev L. A., Makarenko M. V.**

In this study we investigated immune status in umbilical cord blood of 32 healthy newborns and 26 newborns with complex congenital heart deffects. In group of newborns



with CHD we found disbalanced cellular and humoral immune reactivity. Also we found systemic activation of IL-1 $\beta$ , 4,6,8 та TNF- $\alpha$

**Key words:** cord blood, congenital heart defects, immune status, T-lymphocytes, globulins, cytokines, TNF- $\alpha$ .