

ДИНАМІКА РІВНІВ ЦИТОКІНІВ ЯК ПОКАЗНИКІВ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ В НОВОНАРОДЖЕНИХ ІЗ ТРАНСПОЗИЦІЄЮ МАГІСТРАЛЬНИХ СУДИН ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЇ З ВИКОРИСТАННЯМ АУТОЛОГІЧНОЇ ПУПОВИННОЇ КРОВІ

**Ткаченко Я.В., Руденко Н.М., Часовський К.С., Жовнір В.А., Трет'якова І.О.,
Василенко Л.І., Білокінь Н.О., Руденко Н.М., Воробійова Г.М**

*ДУ «Науково-практичний медичний центр дитячої кардіології та кардіохірургії МОЗ України»
(Київ)*

Проведено дослідження показників прозапальних та протизапальних цитокінів у пацієнтів із ТМС у групах з перелитою аутологічною пуповинною та донорською кров'ю. З'ясовано, що пацієнти з перелитою донорською кров'ю мали більш високі рівні прозапальних цитокінів і низький рівень протизапального ІЛ-10 порівняно з хворими з перелитою пуповинною кров'ю.

Ключові слова: *пуповинна кров, транспозиція магістральних судин, ФНП-б, ІЛ-1в, ІЛ-6, ІЛ-8 ІЛ-10.*

Транспозиція магістральних судин (ТМС) є найбільш поширеною критичною вродженою вадою серця (ВВС). ТМС становить 7-15% від усіх ВВС [1]. Золотим стандартом хірургічного лікування ТМС є операція артеріального переключення [2]. Радикальна корекція ТМС відразу після народження відновлює нормальний статус серцево-судинної системи і позитивно впливає на нервову, дихальну та інші системи органів. У попередніх наших дослідженнях була висвітлена проблема корекції вади із застосуванням аутологічної пуповинної крові у новонароджених із ТМС у перші години життя. Переливання компонентів донорської крові асоційовано з розвитком імунологічних, інфекційних та алергічних ускладнень, тому аутодонорство є кращою альтернативою [3].

Значна кількість проблем ведення післяопераційного періоду в дітей цього віку пов'язана з генералізованою відповіддю імунної системи дитячого організму на анестезію, хірургічне втручання і штучний кровообіг (ШК) [4]. Імунна система є інтегруючою у процесах життєдіяльності організму, злагоджена робота всіх систем органів лежить в основі швидкого одужання після складних хірургічних втручань. Важливим інформативним показником стану імунної системи новонародженого в період адаптації є рівень продукції цитокінів, які, будучи сполучною ланкою між імунітетом, гемостазом, гемопоезом, ангіогенезом і неспецифічною резистентністю організму, виступають у ролі регуляторів всіх основних етапів життєдіяльності [5, 6]. Баланс про- і протизапальних цитокінів може бути ключовим моментом, що зумовлює клінічний стан пацієнта [7]. Проте питання цитокіноопосередкованого імунологічного реагування в ранній післяопераційний період у новонароджених із ВВС, яким переливали аутологічну пуповинну кров, залишається малодослідженим і актуальним для вивчення.

Метою нашої роботи було дослідження рівнів прозапальних та протизапальних цитокінів (ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10) у новонароджених із транспозицією магістральних судин, яким під час операції застосовували аутологічну пуповинну кров.

Матеріал і методи досліджень. *Пацієнти:* новонароджені з ТМС були розподілені на 2 групи. Перша група – 28 новонароджених, діагноз встановлено пренатально, операція проводилась у перші години після народження, при хірургічній корекції застосовували аутологічну пуповинну кров; друга група – 50 новонароджених, діагноз встановлено постнатально,

операція проводилась через 3–7 днів після народження, при хірургічному лікуванні використовували компоненти донорської крові. Контрольну групу склали 20 клінічно здорових новонароджених. Дослідження вмісту ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10 у сироватках крові новонароджених проводили у динаміці: до операції, на першу, третю та сьому добу після неї. Рівні ФНП- α , ІЛ-1 $\alpha\beta$, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10 визначали методом ELISA (фірми Bioscience, Австрія).

Загальний аналіз крові проводили на аналізаторі «ABX PENTRA 60» (Франція), підрахунок лейкоцитарної формули крові проводили за загальноприйнятою методикою.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою пакету програм STATISTICA 8.0 (Stat-Soft, 2006, США). Результати представлено у вигляді Медіани (Median (25-75 persentile)). Для порівняння середніх значень досліджуваних груп використовували U-критерій Манна-Уїтні (Mann-Whitney U-test).

Результати досліджень та їх обговорення. Одразу після народження пацієнти 1-ї групи були транспортовані до ДУ «НПМЦДКК МОЗ України», де їм було виконано операцію артеріального переключення в перші години життя. При цьому для перфузіологічно-анестезіологічного забезпечення операції з ШК використовували виключно аутологічну пуповинну кров. Пацієнтів 2-ї групи прооперовано за загальноприйнятим протоколом із використанням компонентів донорської крові.

Деякі клінічні характеристики: загальна гемотрансфузія, штучна вентиляція легень, післяопераційний період, загальний аналіз крові пацієнтів із ТМС наведено у табл. 1,2.

Таблиця 1

Характеристика пацієнтів із транспозицією магістральних судин

Показники	Пацієнти 1-ї групи	Пацієнти 2-ї групи
Загальна гемотрансфузія (мл)	Кордова кров 80 (61–100)*	Донорська ер. маса 110 (94–140)* Тромбоконцентрат 50 (30–70)
Години вентиляції	45,5 (37–57)	51 (42–70)
Перебування в реанімації (діб)	5,7 (4,8–10)	5,89 (5,75–7,54)
Перебування в стаціонарі (діб)	14 (12–16)*	18 (15–22)*

* різниця достовірна між групами $p=0,001$

За даними таблиці видно, що пацієнтам 2-ї групи було перелито достовірно більшу кількість крові, ніж пацієнтам 1-ї групи, що склало 110 мл еритроцитарної маси та 50 мл тромбоконцентрату, в той час як цільної кордової крові пацієнтам 1-ї групи перелито 80 мл. Нами встановлена кореляція між перелитою донорською кров'ю пацієнтам 2-ї групи та перебуванням їх у стаціонарі $r=0,54$, $p<0,05$. Чим більше перелито чужорідної крові, тим довше пацієнти перебували в стаціонарі. Виявлена достовірна різниця між групами в періоді перебування в стаціонарі (1 група – 14 діб, 2 група – 18 діб). За такими показниками, як перебування у відділенні реанімації та години вентиляції, достовірної різниці між досліджуваними групами не спостерігалось.

Результати загального аналізу крові досліджуваних пацієнтів на 7-у добу після операції наведено в табл. 2.

На 7-у добу після операції показники загального клінічного аналізу крові у пацієнтів 1-ї та 2-ї групи значно не відрізнялися, незважаючи на те, що пацієнтам 2-ї групи було

Показники загального аналізу крові на 7-у добу після операції у новонароджених із ТМС

Показники	1 група новонароджених (n=28)	2 група новонароджених (n=50)	Здорові новонароджені на 1–7 добу (n=20)
Лейкоцити (10^9 /л)	12,0 (9,2–15,7)	12,8 (10,5–15,9)	14,9 (9,2–20)
Еритроцити (10^{12} /л)	3,45 (2,7–3,9)*	4,2 (3,8–4,7)*	5,2 (4–6,5)
Гемоглобін (г/л)	124 (98–137)**	132 (120–140)**	175 (160–210)
Тромбоцити (тис.)	345 (268–430)	329 (251–425)	350 (180–400)
ШОЕ (мм/год)	15 (8–20)	15 (5,5–24,5)	2 (1–9)
Паличкоядерні нейтрофіли (%)	4 (4–9)	5 (3–8)	2 (1–6)
Сегментоядерні нейтрофіли (%)	43 (40–50)**	37 (30–46)**	39,5 (35–60)
Лімфоцити (%)	31 (21–35)**	37 (27–46)**	49,5 (30–55)
Моноцити (%)	14,0 (10–19)	11,5 (9,5–16,5)	7 (2–9)
Еозинофіли (%)	4 (3–6)	5 (1–7)	3,5 (0,5–5)
Базофіли (%)	0	1	0,5 (0–2)
Мієлоцити (%)	1 (1–3)	1,5 (1–3)	0
Метамієлоцити (%)	1 (1–4)	1 (1–3)	0
Плазматичні клітини (%)	1	0	0

* p<0,001 **p<0,005

перелито більшу кількість крові, ніж досліджуваним пацієнтам. Достовірна різниця між групами спостерігалась за даними гемоглобіну, який був вищий у пацієнтів 2-ї групи за рахунок більшої гемотрансфузії. За кількістю лімфоцитів та сегментоядерних нейтрофілів (с/я) також ми мали достовірну різницю між обома групами. В 1-ій групі незначно перевищувала кількість с/я (43%) над лімфоцитами (31%). У 2-ій групі ці показники були однаковими – с/я (37%), лімфоцити (37%). Саме сегментоядерні нейтрофіли – перші клітини, які беруть участь у розвитку запальних процесів і стоять на захисті організму від інфекцій, продукують цитокіни, які є міжклітинними сигнальними молекулами, що каскадно запускають запальні та протизапальні процеси.

В підтримці гомеостазу після кардіохірургічних операцій із ШК та попередженні системного запалення важливу роль відіграє збалансована цитокінова відповідь. До пригнічення імунітету може призвести надлишкова продукція як про-, так і протизапальних цитокінів.

Нами проведено порівняльне дослідження цитокіноопосередкованої відповіді на проведеної операції в обох групах пацієнтів (табл. 3).

Згідно з таблицею, в доопераційний період показники ФНП- α , ІЛ-8, ІЛ-10 в досліджуваних групах мали відмінності. У новонароджених 2-ї групи визначались вищі показники ФНП- α (12,6 пг/мл), ІЛ-8 (34,27 пг/мл), ніж у пацієнтів 1-ї групи, де ФНП- α (8,5 пг/мл), ІЛ-8 (16 пг/мл). Це може пояснюватися тим, що пацієнти 1-ї групи на момент дослідження мали вік декілька годин від народження, тоді як пацієнтам 2-ї групи операція виконувалась у віці до 7 днів. При ТМС клінічні прояви починаються відразу після наро-

Сироваткові рівні прозапальних та протизапальних цитокінів у новонароджених із ГМС

Показники	До операції	1 доба після операції	3 доба після операції	7 доба після операції	Здорові новонароджені	
ФНП-α , (пг/мл)	1 група	8,5 (6,1–14,1)*	49,44 (8,25–77,6)	11,68 (8–39,2)	39 (9,2–46)	7,35±4,4
	2 група	12,6 (9,43–42,9)*	42,6 (9,8–92,5)	14,6 (9,74–22)	26,2 (8,7–74,7)	
ІЛ-1β (пг/мл)	1 група	2,55 (2,2–3,46)	2,87 (2,37–3,44)	2,38 (2,2–3,1)	2,63 (2,4–3,97)	3,43±0,39
	2 група	2,46 (1,99–3,19)	2,36 (2,1–3,2)	2,58 (2,17–3,3)	2,6 (2–3,32)	
ІЛ-6 (пг/мл)	1 група	2,24 (1,16–5,0)	25,6 (1,4–79,6)	2,1 (1,4–4,0)	2,58 (1,33–8,4)	5,27±7,5
	2 група	1,8 (1,2–4,65)	13,95 (3,69–40,8)	4,06 (1,7–10,2)	4,07 (1,57–9,1)	
ІЛ-8 (пг/мл)	1 група	16 (11,3–23,3)*	29,6 (26–55)*	31,2 (21,6–49,8)*	30,7 (27,2–58,8)*	12,54±3,8
	2 група	34,27(23,2–68,2)*	64,37 (36,1–98,5)*	47,55 (32,86–117,3)*	38,15 (25,4–83,9)*	
ІЛ-10 (пг/мл)	1 група	5,6 (4,8–21)*	20,4 (11,5–44,2)*	3,7 (3,26–4,8)	5,0(3,61–8,55)*	7,1±11,9
	2 група	2,07 (1,68–3,46)*	8,15 (5,65–11,46)*	4,44 (2,9–6,7)	2,96 (2,3–3,6)*	

* - різниця статистично достовірна між досліджуваними групами, p<0,001

дження, а саме виражена гіпоксія, яка посилюється, якщо ваду не корегувати. Саме цей процес може викликати певні гомеостатичні зміни в організмі, з гіпоксією змінюється і склад крові, відповідно з'являється процес запалення, зростають рівні запальних цитокінів.

Пацієнти 1-ї групи на момент, коли їм проводили корекцію вади серця, не мали клінічно виражених змін порівняно з внутрішньоутробним існуванням. Цей час є важливим і найкращим для проведення операції, тому що дитина не має тих глибоких наслідків, які після народження поступово наростають при даній ваді. Як показали наші дослідження, процеси відновлення в післяопераційному періоді у хворих 1-ї групи відбуваються краще, ніж у пацієнтів, які вже мали певні ускладнення ще в доопераційному періоді.

Таким чином, ми бачимо, що запальний процес зростає в першу добу після операції у пацієнтів обох груп. В 2-ій групі пацієнтів, які мали на доопераційному етапі досить високі рівні ІЛ-8, на 1-у добу відмічалось більше зростання цього показника (64,37 пг/мл), ніж в 1-й групі (29,6 пг/мл). На 7-у добу після операції поступово знижується рівень ІЛ-8 в обох групах. Різниця між групами за показником ІЛ-8 протягом досліджуваного етапу була достовірною. При проведенні кореляційного аналізу виявлена кореляція у пацієнтів 2-ї групи між кількістю ІЛ-8 на 1-у добу після операції та перебуванням в реанімації (де $r=0,717$, $p<0,05$), кількістю ІЛ-8 на 1-у добу та годинами вентиляції ($r=0,43$, $p<0,05$), кількістю ІЛ-8 на 1-у добу та кількістю перелитої донорської еритроцитарної маси ($r=0,55$, $p<0,05$), кількістю ІЛ-8 на 7-у добу та перебуванням у реанімації ($r=0,65$, $p<0,05$), кількістю ІЛ-8 на 7-у добу та переливанням донорської еритроцитарної маси ($r=0,46$, $p<0,05$). З цього видно: чим більше кількість донорської крові було перелито пацієнтам 2-ї групи, тим вищим був рівень ІЛ-8 у них та збільшувалось перебування у відділенні реанімації і в стаціонарі загалом.

Цитокінова відповідь повинна бути збалансованою, при зростанні прозапальних цитокінів зростають протизапальні, чого не відбувалося в групі пацієнтів з перелитою донорською кров'ю. Під час вираженого запального процесу (зростанні запальних ФНП- α , ІЛ-8), навпаки, рівень ІЛ-10 у пацієнтів 2-ї групи знаходився в межах або зовсім нижче норми. Це може свідчити про незбалансовану цитокінову відповідь, зсув у бік запальних показників, що значно впливало на процеси репарації в післяопераційному періоді. Незбалансований процес регуляції міжклітинної взаємодії і призводить до затяжного запального процесу, порушення імунних функцій та довшого загоєння тканин. Пацієнти, яким було перелито донорську кров, знаходились у відділенні стаціонару достовірно довше і мали деякі ускладнення з боку дихальної системи (дихальна недостатність у зв'язку з альвеолярним набряком, викликаним обструкцією кровотоку на рівні гіпоплазованих легеневих вен, що вимагало тривалої механічної вентиляції з використанням високочастотного апарату ШВЛ), у них спостерігалась гіпертермія до 2 тижнів з підвищенням t° вище 38° , гостра правошлуночкова недостатність та ін.

Пацієнти 1-ї групи мали врівноважену цитокінову відповідь у післяопераційному періоді, при зростанні прозапальних показників паралельно зростав ІЛ-10, який регулює гіперактивність дії запальних цитокінів. Ці пацієнти практично не мали післяопераційних ускладнень, їх перебування в стаціонарі було недовготривалим.

Висновок. Проведені нами дослідження свідчать про позитивний вплив аутологічної пуповинної крові на організм дитини в ранній післяопераційний період та покращення процесів відновлення.

Література

1. Книшов Г.В. Природний перебіг вроджених вад серця у дітей / Н.М. Руденко, М.М. Руденко // Тези 1 наукової конференції Асоціації серцево-судинних хірургів України. – 1993. – N 1. – С. 50.

2. Sarris G.E. The arterial switch operation in Europe for transposition of the great arteries: A multi-institutional study from the European Congenital Heart Surgeons Association / George E. Sarris, Andrew C. Chatzis, Nicolas M. Giannopoulos, George Kirvassilis // *J Thorac Cardiovasc Surg.* – 2006. – Vol. 132. – P. 633-639.
3. Воробйова Г.М. Прозапальні цитокини у новонароджених зі складними вродженими вадами серця при застосуванні аутологічної пуповинної крові та компонентів донорської крові / Ткаченко Я. В., Жовнір В.А., Яковенко Л.Ф., Часовський К.С. // *Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України.* – 2011. – С. 60-65.
4. Mandal K. Association of anti-heat shock protein 65 antibodies with development of postoperative atrial fibrillation / Jahangiri M., Mukhin M., Poloniecki J., Camm J., Xu Q. // *Circulation.* – 2004. – Vol. 110. – P. 2588–2590.
5. Evans D.J. Anticonvulsants for preventing mortality and morbidity in full term newborns with perinatal asphyxia / Levene MI // *The Cochrane Library.* – 2001. – Vol. 3. – P. 317–323.
6. Aguilar L. Psychometric analysis in children with mental retardation due to perinatal hypoxia treated with fibroblast growth factor (FGF) & showing improvement in mental development / *J. Intellect. Disabil. Res.* – 1993. – Vol. 37. – P. 507–520.
7. Paul E. A. Biological and molecular structure analysis of the controls on soil organic matter dynamics / Magrini-Baer K., Conant R., Follet R.F., and Morris S.J. // *Proceedings of the 14th International Meeting of the International Humic Substances Society.* – 2008. – Vol. 2. – P. 167–170.

ДИНАМИКА УРОВНЕЙ ЦИТОКИНОВ КАК ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ТРАНСПОЗИЦИЕЙ МАГИСТРАЛЬНЫХ СОСУДОВ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНОЙ ПУПОВИННОЙ КРОВИ

Ткаченко Я.В., Руденко Н.Н., Часовский К.С., Жовнір В.А., Третьякова И.А., Василенко Л.И., Белоконь Н.А., Руденко Н.Н., Воробьева А.М.

Проведено исследование сывороточных уровней провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у пациентов с ТМС в группах с перелитой аутологичной пуповинной и донорской кровью. Выяснено, что пациенты с перелитой донорской кровью имели более высокие уровни провоспалительных цитокинов и низкий уровень противовоспалительного ИЛ-10 в сравнении с перелитой пуповинной кровью.

Ключевые слова: *пуповинная кровь, транспозиция магистральных сосудов, ФНО-6, ИЛ-1в, ИЛ-6, ИЛ-8 ИЛ-10.*

DYNAMICS OF CYTOKINE LEVELS AS INDICATORS OF INFLAMMATION IN NEWBORNS WITH TRANSPOSITION OF GREAT VESSELS AFTER SURGERY WITH THE USE OF AUTOLOGOUS CORD BLOOD

Tkachenko Y., Rudenko N., Chasovskyi K., Zhovnir V., Tretiakova I., Vasilenko L., Bilokin N., Rudenko N., Vorobyova G.

Our were comparated characteristics in terms of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in patients with transposition of great vessels groups pour of autologous and donor umbilical cord blood, we found that patients 2 groups had higher levels of proinflammatory cytokines and low levels of anti-inflammatory IL-10. They had clinical complications. Patients of 1st group had a slight increase of inflammatory and anti-inflammatory parameters.

Key words: *cord blood, transposition of great vessels, TNF-6, IL-1в, IL-6, IL-8 IL-10.*