

УДК: 613-053.2

Панченко А.С., Панова М.С.

## СОДЕРЖАНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПУПОВИННОЙ КРОВИ У ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ГИПОКСИЧЕСКИМИ СОБЫТИЯМИ

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Читинская государственная медицинская академия»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации; 672000 г. Чита, ул. Горького, 39А*

**Цель исследования:** оценить некоторые иммунологические показатели пуповинной крови у новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию и/или асфиксию при рождении.

**Материалы и методы.** В исследование включено 142 доношенных новорожденных ребенка, которые в ходе исследования были разделены на 2 группы: 1 группа (n=90) – дети, перенесшие внутриутробную гипоксию и/или асфиксию при рождении; 2 группа (n=52) – контрольная группа, дети, родившиеся с нормальной оценкой по шкале Апгар и не испытавшие внутриутробную гипоксию. Методом твердофазного иммуноферментного анализа проведено исследование уровня интерлейкинов в пуповинной крови у доношенных новорожденных детей, перенесших внутриутробную гипоксию и/или асфиксию в родах.

**Результаты.** Маркерами перенесенных гипоксических событий (в сравнении с группой контроля) послужили повышенные уровни таких провоспалительных цитокинов, как интерлейкин (ИЛ)–1 $\beta$  – 8,5 (0,09; 36,39), ИЛ–6 – 14,11 (6,71; 141,0), ИЛ–8 – 50,4 (10,8; 182,7).

**Заключение.** Повышенный уровень ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8 в пуповинной крови у детей с гипоксическими событиями может быть использован как маркер возникновения ишемического поражения головного мозга, что в будущем позволит прогнозировать возможные исходы и разработать ряд рекомендаций по снижению негативного гипоксического воздействия на здоровье доношенных новорожденных детей.

**Ключевые слова:** новорожденные дети; асфиксия; внутриутробная гипоксия; цитокины.

Panchenko A.S., Panova M.S.

## LEVEL OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN UMBILICAL CORD BLOOD IN FULL-TERM INFANTS WITH HYPOXIC EVENTS

*Chita State Medical Academy; 39A Gorky St, Chita, Russia, 672000*

**Aim:** to evaluate some immunological indicators of umbilical cord blood in newborns after intrauterine hypoxia and / or asphyxia at birth.

**Materials and methods.** The study included 142 full-term newborns, which in the course of the study were divided into 2 groups: Group 1 (n = 90) – children who underwent intrauterine hypoxia and / or birth asphyxia; Group 2 (n = 52) – the control group, children born with a normal Apgar score and who did not experience intrauterine hypoxia. The method of solid-phase enzyme immunoassay conducted a study of the level of interleukins in umbilical cord blood in full-term newborns who underwent intrauterine hypoxia and / or asphyxia during labor.

**Results.** Markers of transferred hypoxic events (in comparison with the control group) were increased levels of such pro-inflammatory cytokines as interleukin (IL) -1 $\beta$  -8,5 (0,09; 36,39), IL-6 – 14,11 (6,71; 141,0), IL-8 – 50,4 (10,8; 182,7).

**Conclusion.** Increased levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 in cord blood in children with hypoxic events can be used as a marker for the occurrence of ischemic brain damage, which in the future will make it possible to predict possible outcomes and develop a number of recommendations for reducing the negative hypoxic effects on health full-term newborns.

**Key words:** newborns; asphyxia; intrauterine hypoxia; cytokines.

Несмотря на стремительно развивающиеся успехи в оказании помощи беременным и новорожденным детям, проблема гипоксии и асфиксии всё же остается актуальной. Патологическое течение беременности, родов и/или рождение ребенка в асфиксии может привести в будущем к развитию детского церебрального паралича, эпилепсии, минимальной мозговой дисфункции, а также к смерти [1, 2, 3].

Значимая роль в патогенезе гипоксических событий на молекулярном уровне принадлежит про- и противовоспалительным цитокинам, которые высвобождаются в центральной нервной системе микроглией. Согласно исследованиям как отечественных, так и зарубежных авторов, значительное увеличение содержания некоторых ИЛ, таких как ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, а также их дисбаланс с противовоспалительными цитокинами (ИЛ-4, ИЛ-10), коррелирует с тяжестью ишемического повреждения головного мозга и предопределяет неблагоприятный неврологический исход у детей [3, 4, 5, 6].

Подобные исследования являются актуальными и направлены на идентификацию и внедрение в клиническую практику современных биохимических маркеров гипоксического поражения головного мозга, что обеспечит разработку новых алгоритмов диагностики.

**Цель исследования:** оценить некоторые иммунологические показатели пуповинной крови у новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию и/или асфиксию при рождении.

**Материалы и методы.** В исследование включено 142 доношенных новорожденных ребенка, рожденных в Забайкальском краевом перинатальном центре и перинатальном центре Краевой клинической больницы г. Чита в период с 2017 г. по 2018 г. Проведен ретроспективный анализ историй развития новорожденных.

В ходе исследования дети были разделены на 2 группы: 1 группа - основная (n = 90) – дети, перенесшие хроническую внутриутробную гипоксию плода (по данным кардиотокографии, биофизического профиля плода, ультразвукового исследования с доплерографией, наличия хронической фетоплацентарной недостаточности субкомпенсированной формы) и/или асфиксию при рождении (оценка по шкале Апгар на первой минуте 7 баллов и ниже), 2 группа – контрольная (n = 52) - дети, родившиеся с нормальной оценкой по шкале Апгар и не испытывавшие внутриутробную гипоксию. Дети 1 группы исследования были рождены на сроке гестации 37–42 недели (39,37  $\pm$  0,91), имели массу тела от 1727 г до 4120 г (3188,1  $\pm$  362,94), длину тела от 44 см до 57 см (51,20  $\pm$  1,99). Дети 2 группы исследования были рождены на сроке гестации 37–41 неделя (39,43  $\pm$  0,81), с массой тела от 2446 г до 4456 г (3371,9  $\pm$  328,95), длиной от 49 см до 60 см (51,96  $\pm$  1,22).

При определении уровня цитокинов в пуповинной крови ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8 использовался иммуноферментный анализатор «Expert 96» и метод твердофазного иммуноферментного анализа, тест-системы фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск), единицы измерения – пикограмм/мл (пг/мл).

Статистическую обработку выполняли с использованием прикладных программ Excel и Statistica 10. Описательная статистика представлена в виде  $M \pm \sigma$ , где  $M$  — среднее арифметическое значение,  $\sigma$  — стандартное отклонение,  $Me$  (медиана) с указанием 25 и 75 перцентилей, качественные признаки описаны в виде относительной частоты наблюдений (%). Использовались методы непараметрической статистики с применением критерия Манна — Уитни (U), критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса. Результаты рассматривали как статистически значимые при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** В основной группе возраст женщин составил от 15 до 41 года (28,71  $\pm$  5,06), в группе сравнения - от 17 до 42 лет (28,70  $\pm$  5,04). Все они имели нормальный социальный статус. Наиболее значимым осложнением беременности в основной группе была отмечена хроническая фетоплацентарная недостаточность, которая встречалась у 69 (76,6%) матерей, в группе контроля таких женщин не было ( $p < 0,05$ ). Развившаяся ХФПН, субкомпенсированная форма в первой группе детей способствовала развитию хронической внутриутробной гипоксии плода в 61 случае (67,7%). Зеленые околоплодные воды отмечались у 14 рожениц основной группы (15,5%) ( $p < 0,05$ ).

На момент родов у беременных женщин основной группы установлено нарушение маточно-плацентарного кровообращения (по данным КТГ, биофизического профиля плода, УЗИ с доплерографией), которое явилось поводом для оперативных родов у 44 (48,8%) матерей, что достоверно выше аналогичного показателя в группе сравнения (8 женщин, 15,3% ( $p$

< 0,05). В группе контроля причинами для проведения операции кесарево сечение оказались родовая слабость, крупный размер плода, узкий таз у рожениц.

В первой группе 36 (40%) детей родилось в асфиксии средней и тяжелой степени тяжести. Средняя оценка по шкале Апгар на первой минуте составила  $6,8 \pm 1,85$  баллов и на 5 минуте жизни -  $7,9 \pm 1,37$  баллов. Клиническая картина раннего неонатального периода в основной группе детей характеризовалась изменением мышечного тонуса (гипотония/дистония), гипорефлексией и снижением двигательной активности в 48 случаях (53,3%) не более 5 суток жизни, в группе контроля у 19 детей (36,5%) ( $p < 0,05$ ). У 8 детей (8,8%) основной группы был гипертонус в конечностях, в группе контроля - у 2 детей. Синдром сниженной нервно-рефлекторной деятельности был у 14 новорожденных первой группы (15,5%), во второй группе таких детей не наблюдалось ( $p < 0,05$ ). В группе детей, испытавших гипоксию и/или асфиксию, отмечалась неврологическая симптоматика: судорожный синдром был у 3 новорожденных (3,3%), синдром перевозбудимости - у 13 детей (14,4%), очаговая симптоматика (асимметрия лица, отсутствия реакции зрачков на свет, глазная симптоматика) - у 3-х детей. В контрольной группе детей отклонения в неврологическом статусе носили транзиторный характер, к концу раннего неонатального периода отсутствовала неврологическая симптоматика, они выписаны домой под наблюдение участкового педиатра.

У исследуемых детей с гипоксическими событиями по данным нейросонографии, проводившейся в 24-72 часа после рождения, в 22 случаях (24,4%) встречался умеренный отек ( $p < 0,05$ ), внутрижелудочковое кровоизлияние I степени у 12 детей (13,33%). Такие случаи, как кисты в каудально-таламической вырезке, ишемические очаги в паренхиме, расширение боковых желудочков, уплотнение стенки стриарных артерий, снижение индекса резистентности, кисты сосудистых сплетений, были единичными.

Диагноз ГИЭ 2 степени был выставлен 10 (11, 1%) детям основной группы (с учётом анамнеза течения беременности и родов, оценки по шкале Апгар, данных клиники и дополнительных методов исследования) по истечении раннего неонатального периода ( $p < 0,05$ ), 12 детей (13,3%) не имели патологической неврологической симптоматики, остальные новорожденные имели клинические признаки гипоксического поражения головного мозга легкой степени.

При анализе сопутствующей патологии в основной группе у 13 младенцев (14,4%) наблюдалась патология органов дыхания в виде транзиторного тахипноэ, синдрома аспирации мекония, пневмония ( $p < 0,05$ ). По данным ЭхоКГ у 7 детей (7,7%) исследуемой группы были изменения в сердечно-сосудистой системе: снижение ударного объема и сократительной способности миокарда, дилатация отделов сердца, трикуспидальная регургитация, гипертрофия миокарда, ускорение кровотока в аорте. В группе контроля у 5 детей (9,6%) были дилатация отделов сердца, ускорение кровотока в аорте, митральная регургитация. Показаниями для проведения ЭхоКГ во второй группе исследования явились изменения по данным УЗИ во время беременности, либо шум над областью сердца при аускультации. Изменения по данным ЭхоКГ в обеих группах исследования имели характер транзиторного нарушения гемодинамики.

На сегодняшний день изучено множество патогенетических механизмов развития гипоксических повреждений головного мозга, которые, в конечном счете, приводят к отеку и гибели нейронов головного мозга [7]. Гипоксическое состояние у новорожденных детей может массово инициировать воспалительную реакцию. Активированные микроглиальные клетки и астроциты продуцируют различные иммуноактивные молекулы, такие как цитокины, факторы роста и хемоаттрактанты. Микроглиальный фагоцитоз способствует восстановлению тканевого гомеостаза путем очистки от некротических клеток [2, 3, 6]. Цитокины, выпущенные активированной микроглией, могут осуществлять как провоспалительное, так и противовоспалительное действие. Они представляют собой универсальную регуляторную систему медиаторов, контролирующую процессы пролиферации и дифференцировки клеточных элементов в кроветворной, иммунной и других гомеостатических системах организма [8].

Результаты иммунологического обследования детей (табл. 1) показали, что в основной группе концентрация ИЛ-1 $\beta$  составила 8,5 (0,09; 36,39), что превышало показатели клинически здоровых детей 2,03 (0,00; 7,74), ( $p < 0,05$ ). ИЛ-1 $\beta$  синтезируется моноцитами, макрофага-

ми, дендридными клетками, НК-клетками, В-лимфоцитами, эпителиальными, эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудов. Клетками-мишенями для него являются клетки сосудистой системы, гипоталамуса и печени [9].

Таблица 1

Уровень интерлейкинов (ИЛ) в пуповинной крови у новорожденных с гипоксическими событиями, и здоровых (Ме ( 25; 75 перцентили)

Параметры	Основная группа (n=90)	Контрольная группа (n=52)	Уровень значимости (p)
ИЛ-1β	8,5 (0,09; 36,39)	2,03 (0,00; 7,74)	0,003
ИЛ-6	14,11 (6,71; 141,0)	8,04 (3,82; 18,34)	0,001
ИЛ-8	50,4 (10,8; 182,7)	14,32 (7,71; 32,14)	0,014

Примечание: \*Критерий Манна-Уитни, уровень статистической значимости при  $p < 0,05$

ИЛ-1β повышает проницаемость сосудистой стенки, стимулирует хемотаксис, фагоцитоз, гемопоэз, цитотоксическую и бактерицидную активность. Эндотелиальные клетки сосудов человека под влиянием ИЛ-1β секретируют полипептиды, подобные тромбоцитарному фактору роста, которые стимулируют клеточную миграцию и пролиферацию и вызывают освобождение сосудистых медиаторов воспаления. Данный механизм в свою очередь, при условии повышенного уровня указанных цитокинов, очень часто приводит к диссеминированной внутрисосудистой коагуляции [10]. ИЛ-1β местно высвобождается в головном мозге после первоначального гипоксического повреждения и играет большую роль в нейроповреждении, а также способствует выработке оксида азота, являющегося одним из основных регуляторов тонуса мозговых сосудов [7, 10]. Данный цитокин стимулирует выработку ИЛ-8, повышение которого, по результатам исследования Г.Н. Чистяковой и соавт. (2014), является прогностически значимым явлением возникновения перинатального поражения ЦНС [4]. Уровень ИЛ-8 также оказался выше 50,4 (10,8; 182,7) в основной группе, чем в группе контроля 14,32 (7,71; 32,14),  $p < 0,05$ . Он продуцируется моноцитами, макрофагами, эндотелиальными клетками. ИЛ-8 является самым ранним провоспалительным цитокином. Данный хемокин вызывает мобилизацию, активацию и дегрануляцию нейтрофилов, а также ангиогенез и хемотаксис лимфоцитов [9, 11].

Такая же тенденция отмечена и при исследовании уровня ИЛ-6, который был достоверно выше в первой группе 14,11 (6,71; 141,0), чем во второй 8,04 (3,82; 18,34),  $p < 0,05$ . ИЛ-6 представляет собой провоспалительный цитокин, медиатор межклеточного взаимодействия Т- и В-лимфоцитов. ИЛ-6 обладает многочисленным спектром биологического действия, основными из которых являются индукция восстановительных механизмов и активация иммунной защиты. Клетками мишенями являются гепатоциты, В-лимфоциты, плазматические клетки, CD4+ Т-лимфоциты, моноциты. Продуцируют ИЛ-6 многие клетки: Т-лимфоциты, макрофаги, эндотелиальные клетки, микроглия и астроциты. Чем выше уровень ИЛ-6 у новорожденных детей после перенесенной асфиксии, тем тяжелее поражение ЦНС и выше вероятность повторных судорог [3, 9, 12]. Согласно некоторым литературным данным уровни таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-1β и ИЛ-6, в мозге отражают степень гипоксически-ишемического поражения головного мозга [4, 5, 12].

**Заключение.** Цитокины ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8 и их повышенный уровень в пуповинной крови у детей с гипоксическими событиями могут быть использованы как ранние маркеры возникновения поражения головного мозга, поскольку они являются важными звеньями патогенеза. Несмотря на то, что в определении диагностической значимости патобиохимических маркеров при повреждении головного мозга достигнут определенный прогресс, в литературе представлено недостаточно данных об их комплексном исследовании в группе доношенных детей, которые перенесли гипоксические события, но не имели достаточных клинических признаков для выставления им неврологического диагноза.

Совокупность литературных данных и результатов нашего исследования позволяет сделать вывод, что одиночный маркер не должен становиться основой в диагностике гипоксических поражений ЦНС у новорожденных, а только в совокупности с другими показателями.

### Литература:

1. Иутинский Э.М., Дворянский С.А., Дрождина М.Б. Течение беременности и родов у женщин с фетоплацентарной недостаточностью. Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Медицина. Фармация. 2014. 18. 54-57.
2. Placha K., Luptakova D., Baciak L., Ujhazy E., Juranek I. Neonatal brain injury as a consequence of insufficient cerebral oxygenation. *Neuro Endocrinol.* 2016. 37(2). 79-961
3. Chaparro-Huerta V., Flores-Soto M.E., Merin Sigala M.E., et al. Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns. *Pediatr Neonatol.* 2017. 58(1). 70-76.
4. Чистякова Г.Н., Ремизова Л.Л., Газиева Л.А., Бычкова С.В., Занина Е.В., Чарипова Б.Т. Про- и противовоспалительные медиаторы у новорожденных с перинатальной патологией. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2014. 59 (2). 66-70.
5. Якорнова Г.В., Ремизова И.И., Чистякова Г.Н., Устьянцева Л.С. Динамика провоспалительных цитокинов у детей, родившихся у женщин с осложненной беременностью, в зависимости от течения раннего периода адаптации. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2015. 60 (4). 50-56.
6. Massaro A.N., Wu Y.W., Bammler T.K., Comstock B. Plasma biomarkers of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr.* 2018. 194. 67-75.
7. Перлман Д.М. Неврология. Проблемы и противоречия в неонатологии. / под ред. Р.А. Полина. М. Логосфера, 2015. 392 с.
8. Князева А.С. Генетический полиморфизм некоторых цитокинов в патогенезе хронической ишемии мозга [диссертация ... канд. мед. наук]. Чита: ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава РФ. 2015.
9. Хайтов Р.М. Иммунология. Структура и функции иммунной системы: Учебное пособие. М. ГЭОТАР-Медиа. 2014. 280 с.
10. Murray K.N., Parry-Jones A.R., Allan S.M. Interleukin-1 and acute brain injury. *Front Cell Neurosci.* 2015. 6(9). 18.
11. Грязнова М.А., Хамнуева Л.Ю., Давыдова А.В., Орлова Г.М. Скорость клубочковой фильтрации и уровень интерлейкина 8 у пациентов с болезнью Грейвса. *Клиническая и экспериментальная тиреоидология.* 2013. 9 (4). 46-51.
12. Doll D.N., Barr T.L., Simpkins J.W. Cytokines: their role in stroke and potential use as biomarkers and therapeutic targets. *Aging Dis.* 2014. 5(5). 294-306.

### References:

1. Iutinskij Eh.M., Dvoryanskij S.A., Drozhkina M.B. The course of pregnancy and childbirth in women with fetoplacental insufficiency. // *Nauchnyye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Meditsina. Farmatsiya.* 2014. 18. 54-57. in Russian.
2. Placha K., Luptakova D., Baciak L., Ujhazy E., Juranek I. Neonatal brain injury as a consequence of insufficient cerebral oxygenation. *Neuro Endocrinol.* 2016. 37(2). 79-961.
3. Chaparro-Huerta V., Flores-Soto M.E., Merin Sigala M.E., et al. Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns. *Pediatr Neonatol.* 2017. 58(1). 70-76.
4. Chistyakova G.N., Remizova L.L., Gazieva L.A., Bychkova S.V., Zanina E.V., Charipova B.T. Pro- and anti-inflammatory mediators in neonates with perinatal pathology. *Russian journal of Perinatology and Pediatrics.* 2014. 59 (2). 66–70. in Russian.
5. Yakornova G.V., Remizova I.I., Chistyakova G.N., Ustieiantseva L.S. Time course of changes in proinflammatory cytokines in infants born to women with complicated pregnancy in relation

- to the course of an early adaptation period. Russian journal of Perinatology and Pediatrics. 2015. 60 (4). 50–56. in Russian.
6. Massaro A.N., Wu Y.W., Bammler T.K., Comstock B. Plasma biomarkers of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr.* 2018. 194. 67-75.
  7. Perlman D.M. *Neurology: Neonatology Questions and Controversies.* / ed. R.A. Polin. Moscow. Logosfera, 2015. 392 p. in Russian.
  8. Knyazeva A. S. Genetic polymorphism of some cytokines in the pathogenesis of chronic brain ischemia [dissertation]. Chita State Medical Academy. 2015. in Russian.
  9. Haitov R.M. *Immunology. Structure and functions of the immune system.* Textbook. Moscow. GEOTAR-Media. 2014. 280 p. in Russian.
  10. Murray K.N., Parry-Jones A.R., Allan S.M. Interleukin-1 and acute brain injury. *Front Cell Neurosci.* 2015. 6(9). 18.
  11. Gryaznova M.A., Khamnueva L.Yu., Davydova A.V., Orlova G.M. Glomerular filtration rate and interleukin 8 level in patients with Graves' disease. *Clinical and experimental thyroidology.* 2013. 9 (4). 46-51. in Russian.
  12. Doll D.N., Barr T.L., Simpkins J.W. Cytokines: their role in stroke and potential use as biomarkers and therapeutic targets. *Aging Dis.* 2014. 5(5). 294-306.