

КЛИНИЧЕСКИЕ ОБЗОРЫ

Роль маркеров системного воспаления в прогнозировании реализации и течения внутриутробного инфицирования

КРАСТЕЛЁВА И. М., УСТИНОВИЧ Ю. А., ШИШКО Г. А.

УО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» г. Минск

Реферат

В статье обобщены современные представления о маркерах системного воспалительного ответа, применяемых у новорожденных детей для ранней диагностики инфекционно-воспалительного процесса. Показаны достоинства и недостатки наиболее часто используемых в неонатологической практике маркеров воспаления. Основное внимание уделено роли цитокинов и их рецепторов в развитии воспалительного процесса и возможности его прогнозирования и ранней диагностики на основании исследования уровней р55 растворимых рецепторов фактора некроза опухоли-альфа. На основе собственных данных авторы показали, что повышение в моче содержания растворимого рецептора ФНО- α выше точки диагностически значимого уровня ($>28,9$ нг/мл) достоверно ассоциируется с риском реализации внутриутробной инфекции у недоношенных новорожденных, а также сопровождается более тяжелыми клиническими проявлениями у них нарушения периода адаптации, что требует более длительных курсов антибактериальной и инфузионной терапии, фототерапии неонатальной гипербилирубинемии, продолжительной искусственной вентиляции легких. Это позволяет предложить исследование уровня р55 в моче в качестве критерия диагностики системного воспалительного ответа у недоношенных новорожденных.

Ключевые слова: новорожденный, диагностические маркеры, синдром системного воспалительного ответа, прокальцитонин, С-реактивный белок, интерлейкин-6, интерлейкин-8, фактор некроза опухоли- α , растворимые рецепторы ФНО- α р55.

В патогенезе и ранней диагностике инфекционно-воспалительного процесса, развивающегося во внутриутробном и раннем постнатальном периодах, остается много аспектов, изученных недостаточно. С позиций прогнозирования реализации и тяжести течения инфекционной патологии особое внимание уделяется диагностике синдрома системного воспалительного ответа (ССВО). Однако общепринятые принципы диагностики ССВО у взрослых для новорожденных мало приемлемы. До настоящего времени нет четких общепризнанных критериев ССВО у новорожденных детей и роль медиаторов воспаления у них изучена недостаточно [1].

Системное воспаление включает ряд последовательных, каскадно протекающих реакций, вовлекающих в патологический процесс практически все органы и системы ребенка со специфическим ответом иммунной системы, степень выраженности которого во многом зависит от функциональных возможностей организма.

Воспаление, возникающее после какой-либо формы тканевого повреждения, сопровождается продукцией цитокинов и белков острой фазы, определение которых может говорить о наличии воспаления и степени его тяжести. В некоторых случаях определение белков острой фазы или цитокинов может свидетельствовать о природе воспалительного процесса или его осложнениях, хотя воспалительные процессы в целом очень схожи, независимо от причины [2]. В этой свя-

зи понятен интерес исследователей и клиницистов к прогормонам кальцитонина и, прежде всего, к прокальцитонину (ПКТ), который, как считают некоторые исследователи, является специфическим маркером инфекции [2, 3]. Есть несколько наблюдений, показывающих, что ПКТ в концентрациях, отмечаемых при сепсисе, может быть потенциально вредным медиатором, вовлекаемым в септический ответ. В частности, он стимулирует экспрессию индуцируемой NO-синтазы (iNOS) с последующей вазодилатацией. Нейтрализация циркулирующего ПКТ моноклональными антителами может положительно повлиять на исход у больных с тяжелым сепсисом [4]. Повышение уровней ПКТ после внутривенного введения бактериального эндотоксина происходит после повышения уровней ФНО- α и ИЛ-6. Уровни прокальцитонина, не обнаруживаясь сразу после введения, начинали увеличиваться через 4 часа после введения и стабилизировались на уровне 4 нг/мл между 8-24 часами. ФНО- α и ИЛ-6 достигают своих пиковых концентраций приблизительно к 90 и 180 минутам соответственно, после введения эндотоксина. Тот факт, что уровни ПКТ повышаются следом за уровнями провоспалительных цитокинов, дает основание предполагать, что повышение уровней ПКТ в сыворотке регулируется прямо или опосредовано цитокинами ФНО- α и ИЛ-6. ПКТ является вторичным медиатором, который может увеличивать воспалительный ответ при сепсисе [4]. Уровни ПКТ в сыворотке увеличиваются

в течение тяжелой генерализованной бактериальной, паразитарной или грибковой инфекции. При тяжелых вирусных инфекциях или воспалительных реакциях неинфекционного происхождения, уровни прокальцитонина не возрастают или показывают только умеренное увеличение. Локальные бактериальные инфекции без системных проявлений также вызывают лишь небольшое увеличение уровней прокальцитонина (0.3-1.5 нг/мл). Недостатками прокальцитонина являются низкая специфичность (48%) и широкие колебания его концентрации в первые дни жизни ребенка [5]. Опубликованы работы, в которых приводятся очень высокие ложноположительные значения прокальцитонина у пациентов с респираторным дистресс-синдромом, острыми заболеваниями легких, гемодинамическими повреждениями, тяжелой травмой без бактериального инфицирования [6].

C-реактивный белок (СРБ) и сывороточный амилоид А продуцируются в ответ на те же стимулы, что и прокальцитонин, но более медленно [7]. C-реактивный белок – часто используемый маркер для оценки тяжести системного воспалительного ответа на инфекции, начинает синтезироваться в период 6-8 часов от начала инфекционного процесса или повреждения тканей. Как диагностический маркер у новорожденных СРБ более чувствительный и специфичный тест по сравнению с показателем лейкоцитов и степенью их незрелости. Однако уровень СРБ повышается очень медленно в начале септической инфекции, чувствительность теста в этот период едва достигает 60%. Наиболее информативен тест в режиме мониторингирования в течение 24 или 48 ч, в этом случае чувствительность его достигает 84%. СРБ достаточно чувствительный, но поздний маркер септической инфекции новорожденных [8].

В условиях инфицирования организма тканевые макрофаги и другие компоненты моноцитарно-макрофагальной системы, активированные микробными антигенами, начинают продуцировать ряд цитокинов. Этот триггерный механизм в большинстве случаев носит универсальный характер. В то же время при выраженной полиорганной недостаточности нет гарантии, что способность ребенка продуцировать те или иные биологически активные вещества, в том числе цитокины, сохранена в достаточной мере.

Влияние цитокинов на клиническую картину и течение заболеваний у новорожденных детей осуществляется через воздействие на иммунную, центральную нервную, эндокринную и сердечно-сосудистую системы, функцию печени, гемопоэз и т.д. В последние годы среди большого числа изучаемых маркеров воспалительного ответа внимание исследователей сконцентрировано на интерлейкинах (ИЛ): ИЛ-6, ИЛ-8 и факторе некроза опухоли- α (ФНО- α) [9]. ИЛ-6 является весьма чувствительным маркером для диагностики инфекций новорожденных в течение первых 72 часов жизни [10], однако имеет очень короткий период циркуляции в крови и становится практически неопределимым у большинства инфицированных детей в течение 24 часов после рождения [11].

Многие исследователи указывают на высокую диагностическую ценность определения уровня ИЛ-8 в

крови новорожденных [11, 12]. ИЛ-8 обладает высокой чувствительностью (80-91%) и специфичностью (76-100%) [11, 12], а в сочетании с определением уровня C-реактивного белка его диагностическая ценность еще более возрастает, что позволяет в ряде случаев ограничить необоснованное применение антибактериальной терапии [11]. Существенных различий в чувствительности и специфичности методов диагностики инфекций у новорожденных путем определения концентраций ИЛ-6 и ИЛ-8 не выявлено, но исследование уровня ИЛ-8 более предпочтительно в связи с тем, что оно выполняется быстрее и требует меньшего объема крови [13]. Установлено также, что точным и легко выполнимым методом диагностики инфекций у новорожденных является определение ИЛ-8 в моче [14].

Провоспалительные цитокины широко вовлечены в процесс развития беременности и течение родов. Они продуцируются различными клетками плаценты и определяются в плаценте или амниотической жидкости. Уровень ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α прогрессивно возрастает во время беременности и родов [15]. При хориоамнионите уровень ИЛ-1 β и ФНО- α возрастает в амниотической жидкости в 10 раз, а уровень ИЛ-6 и ИЛ-8 в 100 раз, при этом уровни ИЛ-6 в крови матери и плода повышаются синхронно, тогда как повышение концентрации ИЛ-8 наблюдается только у плода [16]. В то же время установлено, что у новорожденных, у которых развилась внутриутробная гипоксия, требующая кесарева сечения или инструментального родоразрешения, при рождении отмечается повышение уровня ИЛ-6 и ИЛ-8 в пуповинной крови с одновременным снижением концентрации ФНО- α [17]. Продукция цитокинов зависит от продолжительности гипоксии [18] и максимальной их секреция наблюдается при реперфузии [19]. В механизмах продукции цитокинов задействованы также катехоламины и активные формы кислорода, образующиеся при гипоксии и реперфузии [17].

Основным гуморальным медиатором воспаления является ФНО- α , который так же считается основным медиатором апоптоза и иммунного ответа. Основные продуценты ФНО- α (макрофаги и моноциты) выделяют его в ответ на воздействие липополисахаридов микробной стенки, антигенов, цитокинов и др. факторов. Продукция ФНО- α приводит к повышению проницаемости капилляров, повреждению эндотелия сосудов, внутрисосудистому тромбозу [20]. ФНО- α , в свою очередь, стимулирует продукцию других эндогенных медиаторов воспаления (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, интерферонов и др.) из различных клеток, усиливает фагоцитарную активность и цитотоксичность полиморфноядерных нейтрофилов, непосредственно влияет на дифференцировку Т- и В-клеток, способствуя накоплению свободных радикалов и перекиси водорода [21, 22].

Таким образом, ФНО- α является ведущим компонентом патогенеза местных и системных воспалительных процессов, наблюдающихся при любых патологических состояниях с участием активированных макрофагов. Действие ФНО- α на клетки опосредуется двумя типами рецепторов: рецептор I типа (p55, CD 120a) и рецептор II типа (p75, CD 120b), которые экспрессиру-

ются на поверхности большинства клеток человеческого организма [23]. К сожалению, определение ФНО- α в биологических средах организма новорожденного имеет ограниченную диагностическую ценность, поскольку концентрация его резко снижается в течение короткого времени от начала патологического процесса [24], а растворимые рецепторы р55 циркулируют в крови не менее суток и являются стабильным маркером системных и локальных воспалительных, некротических и прочих патологических реакций, опосредованных ФНО- α [25, 11].

В единичных исследованиях показано, что уровень р55 у новорожденных повышается не только в сыворотке крови, но и в моче, полученной в первые дни после рождения ребенка, при этом его содержание существенно выше, чем в моче детей более старшего возраста, тогда как концентрация р75 в моче у детей разных возрастных групп не различается [26].

Doellner Н. и соавторы [27] отмечали значимое повышение уровня р55 в сыворотке крови инфицированных недоношенных и доношенных детей, но не выявили диагностического значения данного параметра в прогнозировании течения раннего постнатального периода адаптации новорожденных. В нашем исследовании [28, 29, 30] установлено, что при наличии инфекционного процесса содержание р55 в моче в 1-3 сутки жизни повышается у доношенных и недоношенных новорожденных, что достоверно превышает данный показатель у здоровых детей и что позволяет предположить корреляционную связь между уровнем р55 и риском реализации ВУИ. Однако при расчете коэффициента отношения шансов и определения χ -квадрата Пирсона выявлено, что достоверное повышение коэффициента риска реализации ВУИ при увеличении содержания р55 выше точки диагностически значимого уровня ($>28,9$ нг/мл) наблюдается только у недоношенных детей: отношение шансов и коэффициент риска равны соответственно 2,42 и 1,48; χ -квадрат Пирсона равен 4,63, точный критерий Фишера $p=0,0375$.

В наших исследованиях [28, 29, 30] повышение уровня р55 в моче недоношенных новорожденных свыше 28,9 нг/мл достоверно ассоциировалось с более выраженными клиническими проявлениями нарушения периода адаптации. У детей отмечалась более выраженная гипербилирубинемия, проблемы с нарастающим энтеральной нагрузкой. Эти младенцы нуждались в проведении более длительного курса антибактериальной терапии, продолжительной инфузионной терапии и фототерапии неонатальной гипербилирубинемии. Недоношенные новорожденные с повышенным уровнем растворимого рецептора р55 в моче в первые трое суток жизни отличались более тяжелыми расстройствами функции внешнего дыхания, что привело к большей длительности пребывания на искусственной вентиляции легких данной группы детей.

Таким образом, несмотря на интенсивное исследование причин развития и механизмов реализации внутриутробного инфицирования, разработку новых методов их прогнозирования и диагностики, изучение взаимосвязи между течением беременности и риском

реализации внутриутробных инфекций, а также их влияния на течение раннего неонатального периода адаптации, единых общепринятых маркеров не выработано. Поиск доступных, безопасных и достоверных прогностических и диагностических критериев этих патологических состояний остается актуальной задачей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Володин, Н.Н. [и др.] Роль про- и противовоспалительных цитокинов в иммунной адаптации новорожденных детей // *Int. J. Immunorehabilitation*. – 2000. – Vol. 2, № 1. – P. 175–185.
2. Wicher, J. Procalcitonin as an acute phase marker / J. Wicher, J. Bienvenu, G. Monneret // *Ann. Clin. Biochem.* – 2001. – Vol. 38. – P. 483–493.
3. Shichkin, V.P. [et al.] TNF receptor p55 and IL-8(72) and IL-8(77) iso-forms: blood and urine levels in breast cancer patients // *J. Immunotoxicol.* – 2009. – Vol. 6, № 4. – P. 235–242.
4. Whang, K.T. Procalcitonin and proinflammatory cytokine interactions in sepsis / K.T. Whang [et al.] // *Shock*. – 2000. – Vol. 14. – P.73–78.
5. Turner, D. The role of procalcitonin as a predictor of nosocomial sepsis in preterm infants / Turner, D. [et al.] // *Acta paediatr.* – 2006. – Vol. 95, № 12. –P. 1571-1576.
6. Lapillonne, A. Lack of specificity of procalcitonin for sepsis diagnosis in premature infants / A. Lapillonne [et al.] // *Lancet*. – 1998. – Vol. 18, № 351. – P. 1211–1212.
7. Muller, B. Procalcitonin: how a hormone became a marker and mediator of sepsis / B. Muller, K.L.Becker // *Swiss Med. Wkly.* – 2001. – Vol.131. – P. 595-602.
8. Ng, P. C. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule, and C-reactive protein in preterm very low birthweight infants / P. C. Ng [et al.] // *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed.* – 1997. – Vol. 77. – P. 221-227.
9. Ng, P.C. Diagnostic markers of infection in neonates // *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* – 2004. – Vol. 89, № 3. – P. F229–F233.
10. Smulian, J.C. [et al.] Maternal chorioamnionitis and umbilical vein interleukin-6 level for identifying early neonatal sepsis // *J. Matern. Fetal Med.* – 1999. – Vol. 8, № 3. – P. 88–94.
11. Franz, A.R. [et al.] Interleukin-8: a valuable tool to restrict antibiotic therapy in newborn infants // *Acta Paediatr.* – 2001. – Vol. 90, № 9. – P. 1025–1032.
12. Nupponen, I. [et al.] Neutrophil CD11b expression and circulating interleukin-8 as diagnostic markers for early-onset neonatal sepsis // *Pediatrics*. – 2001. – Vol. 108, № 1. – P. E12–17.
13. Weitkamp, J.-H. Interleukin-8 (IL-8) Preferable to IL-6 as a Marker for Clinical Infection / J.-H. Weitkamp, J. Reinsberg, P. Bartmann // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* – 2002. – Vol. 9, № 6. – P. 1401.
14. Bentlin, M.R. [et al.] Is Urine Interleukin-8 Level a Reliable Laboratory Test for Diagnosing Late Onset Sepsis in Premature Infants? // *J. Trop. Pediatr.* – 2007. – Vol. 53, № 6. – P. 403–408.
15. Opsjon, S.-L. [et al.] Tumor necrosis factor, interleukin-1, and interleukin-6 in normal human pregnancy // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1993. – Vol. 169, № 2, Pt. 1. – P. 397– 404.
16. Stallmach, T. [et al.] Cytokine production and visualized

- effects in the feto-maternal unit. Quantitative and topographic data on cytokines during intrauterine disease // *Lab. Invest.* – 1995. – Vol. 73, № 3. – P. 384–392.
17. Jokic, M. [et al.] Fetal distress increases interleukin-6 and interleukin-8 and decreases tumor necrosis factor- α cord blood levels in noninfected full-term neonates // *BJOG.* – 2000. – Vol. 107, № 3. – P. 420 – 425.
 18. Liao, J. [et al.] Role of epinephrine in TNF, IL-6 production from isolated perfused rat liver // *Am. J. Physiol.* – 1995. – Vol. 268, № 4, Pt. 2. – P. R896–R901.
 19. Okazaki, K. [et al.] Elevation of cytokine concentrations in asphyxiated neonates // *Biol. Neonate.* – 2006. – Vol. 89, № 3. – P. 183–189.
 20. Giraud, E. Tumor necrosis factor-alpha regulates expression of vascular endothelial growth factor receptor-2 and of its co-receptor neuropilin-1 in human vascular endothelial cells // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273, № 34. – P. 22128–22135.
 21. Семенов А.С., Скальный А.В.; ред. Грудень М.А. Иммунопатологические и патобиохимические аспекты патогенеза перинатального поражения мозга – СПб.: Наука, 2009. – 368 с.
 22. Rahman, I. Oxidative stress and TNF-alpha induce histone acetylation and NF-kappaB/AP-1 activation in alveolar epithelial cells: potential mechanism in gene transcription in lung inflammation // *Mol. Cell Biochem.* – 2002. – Vol. 1-2. – P. 234–235, 239–248.
 23. Chen, G. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway / G. Chen, D.V. Goeddel // *Science.* – 2002. – Vol. 296, № 5573. – P. 1634–1635.
 24. Froom, A.H.M. [et al.] Increased plasma concentrations of soluble tumor necrosis factor receptors in sepsis syndrome: correlation with plasma creatinine values // *Crit. Care Med.* – 1994. – Vol. 22, № 5. – P. 803–809.
 25. M. van Deuren [et al.] Plasma Patterns of Tumor Necrosis Factor- α (TNF) and TNF soluble Receptors During Acute Meningococcal Infections and the Effect of Plasma Exchange // *Clin. Infect. Dis.* – 1998. – Vol. 26, № 4. – P. 918–923.
 26. Austgulen, R. [et al.] Increased Levels of Soluble Tumor Necrosis Factor- α Receptors in Serum from Pregnant Women and in Serum and Urine Samples from Newborns // *Pediatr. Res.* – 1993. – Vol. 33, № 1. – P. 82–87.
 27. Doellner, H. [et al.] Increased serum concentrations of soluble tumor necrosis factor receptors p55 and p75 in early onset neonatal sepsis // *Early Hum. Dev.* – 1998. – Vol. 52, № 3. – P. 251–261.
 28. Крастелева И.М., Акалович С.Т., Шишко Г. А. Роль растворимого рецептора ФНО- α p55 и интерлейкина-8 в прогнозировании реализации внутриутробного инфицирования у новорожденных детей // *Репродуктивное здоровье.* – 2010. – № 4. – С. 77–87.
 29. Устинович Ю.А., Крастелева И.М., Котлинская Ю.В. Неинвазивная диагностика синдрома системного воспалительного ответа и полиорганной дисфункции у недоношенных новорожденных // *Оригинальні дослідження укр. мед. часопис,* 3(83) – v/vi 2011
 30. Крастелева И.М., Устинович Ю.А., Котлинская Ю.В., Шишко Г.А. Перспективы прогнозирования развития и оценки тяжести системного воспалительного ответа у недоношенных новорожденных. // *ARS Medica,* №7, 2011 – С. 88-93.

Role of markers of system inflammation in forecasting of realisation and course of pre-natal infection (review)

KRASTELYOVA I.M., USTINOVICH U.A., SHISHKO G.A.

Educational institution «Belarusian medical academy of postgraduate education», Minsk

Abstract

In the article modern representations about the markers of system inflammatory answer applied at newborn children for early diagnostics of infectious-inflammatory process are generalized. Merits and demerits of most often used markers of inflammation in neonatological practice are shown. The basic attention is given the role of cytokines and their receptors in the development of inflammatory process and possibility of its forecasting and early diagnostics on the basis of research of levels p55 soluble receptors of factor of tumor necrosis factor-alpha. On the basis of own data the authors have shown that the increase in urine of the content of soluble receptor TNF - α above the point of diagnostically significant level (> 28,9 ng/ml) authentically associates with risk of realization of pre-natal infection at preterm newborns, and also is accompanied by heavier clinical displays at them infringement of the period of adaptation that demands longer courses of antibacterial and fluid therapy, phototherapy, long artificial ventilation of lungs. It allows to offer the research of p55 level in urine as the criterion of diagnostics of the system inflammatory answer at preterm newborns.

Key words: newborn, diagnostic markers, syndrome of system inflammatory answer, procalcitonin, C-reactive protein, interleukin-6, interleukin-8, tumor necrosis factor-alpha (TNF - α), soluble receptors TNF - α p55.