

Г.А. Шишко, И.М. Крастелева, Ю.А. Устинович

Диагностическая значимость интерлейкина-8 при перинатальной гипоксии и инфекционно-воспалительных заболеваниях у новорожденных

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Исследована диагностическая значимость интерлейкина-8 при перинатальной гипоксии у новорожденных детей с внутриутробным инфицированием. Установлено, что изолированное определение интерлейкина-8 в биологических средах у новорожденных детей может быть малоинформативным без учета сопутствующих состояний. Перинатальная гипоксия оказывает существенное влияние на уровни этого маркера воспаления, причем это влияние зависит от гестационного возраста ребенка.

Ключевые слова: новорожденный, интерлейкин-8.

В патогенезе и ранней диагностике инфекционно-воспалительного процесса, развивающегося во внутриутробном и раннем постнатальном периодах, остается много недостаточно изученных аспектов. Одним из таких аспектов является системное воспаление, которое является ключевым в реализации процесса внутриутробного инфицирования в постнатальную инфекционную патологию. 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. Синдром полиорганной дисфункции часто не позволяет адекватно оценить реакцию новорожденного ребенка на патологический процесс. 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) [11]. ИЛ-6 является весьма чувствительным маркером для диагностики инфекций новорожденных в течение первых 72 часов жизни [9, 13], однако имеет очень короткий период циркуляции в крови и становится практически неопределимым у большинства инфицированных детей в течение 24 часов после рождения [5, 10].

Многие исследователи указывают на высокую диагностическую ценность определения уровня ИЛ-8 при инфекционной патологии в крови новорожденных [5, 8, 10, 13,16]. ИЛ-8 обладает высокой чувствительностью (80-91%) и специфичностью (76-100%) [5, 8, 10,16], а в сочетании с определением уровня С-реактивного белка его диагностическая ценность еще более возрастает, что позволяет в ряде случаев ограничить необоснованное применение антибактериальной терапии [5, 10]. 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 [15]. Установлено также, что определение ИЛ-8 в моче является точным и легко выполнимым методом диагностики инфекций у новорожденных [4]. В то же время диагностическая значимость его при диагностике инфекции на фоне гипоксического состояния (асфиксии) остается недостаточно изученной.

Некоторые клинические исследования показали, что высокие концентрации ИЛ-8 могут присутствовать в плазме крови у части больных при септических состояниях и септическом шоке, однако во многих случаях ИЛ-8 в крови при этих состояниях не обнаруживается. В связи с этим его роль в системных воспалительных реакциях остается неясной [7]. Вместе с тем, имеющиеся экспериментальные данные позволяют рассматривать появление растворимого ИЛ-8 в крови больного как крайне неблагоприятный фактор развития патологического процесса [14].

Моноциты крови являются самыми активными продуцентами ИЛ-8. Эти клетки синтезируют интерлейкин-8 в ответ на многие стимулы, такие как , интерлейкин-3 (ИЛ-3), αлипополисахариды микроорганизмов, ИЛ-1, ФНО- интерлейкин-7 (ИЛ-7), колониестимулирующий фактор гранулоцитов-макрофагов (ГМ-КСФ), бактерии, гипоксию [1].

ИЛ-8 – основной хемокин, участвующий в процессах активации нейтрофилов, апоптоза, хемотаксиса и миграции нейтрофильных лейкоцитов в процессе воспаления и антибактериального ответа. В настоящее время ИЛ-8 рассматривается как центральный медиатор неспецифической защиты организма, связанной с нейтрофилами, продукция которого клетками различных типов очень быстро включается под действием как неспецифических факторов, таких как травма и гипоксия, так и бактериальных продуктов, например, липополисахаридов, и воспалительных цитокинов (ФНО-а, ИЛ-1) [1, 12].

Другой важной функцией хемокина ИЛ-8 является регуляция продолжительности жизни зрелых нейтрофилов. Вышедшие из костного мозга зрелые нейтрофилы живут непродолжительное время и погибают путем апоптоза. ИЛ-8 снижает спонтанный апоптоз нейтрофилов, [6]. αкультивируемых *in vitro*, с 54% до 5%, и вдвое – апоптоз, вызванный ФНО- Таким образом, в воспалительном очаге ИЛ-8 не только активизирует нейтрофилы, но и продлевает их жизнь, позволяя элиминировать микроорганизмы и завершить фагоцитоз, как неотъемлемую часть воспалительного ответа.

Причинами развития нейтропении могут послужить сами инфекции, в первую

очередь вирусные (HIV, HBV, EBV), а также инфекции, вызванные микобактериями, грибами. Транзиторная нейтропения развивается вслед за эндотоксемией. На фоне нейтропении чаще других развиваются инфекции, вызванные бактериями, колонизирующими кожу, слизистые оболочки, носоглотку, желудочно-кишечный тракт: *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и другими гноеродными бактериями [3].

Приобретенная нейтропения может иметь разные причины. Лекарственную нейтропению могут индуцировать многие фармакологические агенты. Тяжелую нейтропению вплоть до агранулоцитоза может вызвать применение таких распространенных лечебных препаратов, как сульфаниламиды, пенициллины, цефалоспорины, фенотиазины, анти тиреоидные препараты, хлорамфеникол [17]. Последние два в неонатологии практически не используются, но следует учитывать, получала ли их мать ребенка не за долго до родов.

У новорожденных детей в периоде ранней постнатальной адаптации нередко выявляется как увеличение абсолютного числа нейтрофилов на фоне признаков внутриутробной инфекции, так и нейтропения. В этих условиях изучение особенностей баланса про- и противовоспалительных цитокинов при физиологическом и осложненном течении раннего периода постнатальной адаптации представляется нам задачей крайне актуальной.

Цель исследования: установить диагностическую значимость уровня ИЛ-8 при перинатальной гипоксии и развитии инфекционно-воспалительных заболеваний у новорожденных.

Материалы и методы.

Нами проведено клиничко-лабораторное обследование 44 новорожденных детей, родившихся в состоянии асфиксии и без нее, доношенными и раньше срока, с целью определения информативности ИЛ-8 как маркера инфекционно-воспалительного процесса на фоне асфиксии различной степени и без нее.

Все вошедшие в исследование дети родились в УЗ «2-й городской клинический родильный дом» города Минска в 2008-2010 годах. Диагноз внутриутробной инфекции был выставлен на основании изучения особенностей течения беременности, родов, клиничко-лабораторного и инструментального обследования в динамике раннего неонатального периода. В исследование вошли 14 доношенных новорожденных, родившихся с массой тела 2650-4460 грамм, в сроке гестации 38-40 недель. Недоношенные дети (30 пациентов), родились с массой тела 700-2980 грамм, в сроке гестации 25-36 недель.

У всех детей концентрацию ИЛ-8 определяли в моче методом иммуноферментного анализа (ИФА) на основе моноклональных антител, поскольку этот метод является неинвазивным и полностью отражает содержание изучаемых факторов в плазме крови новорожденного [2, 16]. Образцы мочи забирались мочеприемниками или посредством катетеризации мочевого пузыря в первые трое суток жизни.

Результаты и обсуждение.

Из полученных данных следует, что у доношенных детей низкая оценка по шкале Апгар при рождении сопровождается увеличением содержания ИЛ-8 в

моче, причем это увеличение резко выражено в случае тяжелой асфиксии (рис 1).

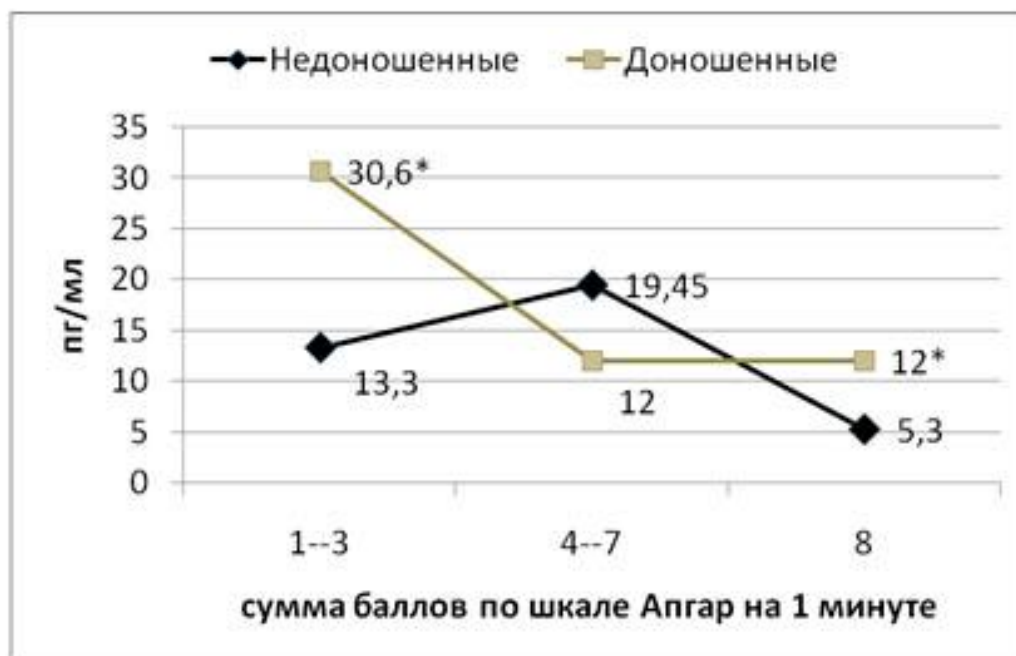


Рисунок 1. Влияние асфиксии на уровень ИЛ-8 у доношенных и недоношенных детей.

У недоношенных детей, родившихся с оценкой на первой минуте по шкале Апгар 8 баллов содержание ИЛ-8 в моче было достоверно ниже, чем у доношенных с аналогичной оценкой, что, очевидно, является результатом ограниченной реактивности вследствие недоношенности и морфофункциональной незрелости. Это сопряжено с тем, что недоношенные дети должны рассматриваться, как иммунодефицитные пациенты. Возможной причиной этого является тот факт, что плацентарный перенос IgG эффективен после 32 недели беременности [14].

Обращает внимание неоднозначное влияние гипоксии на способность недоношенных детей продуцировать ИЛ-8. Так, если умеренная асфиксия при рождении сопровождалась значительным повышением уровня ИЛ-8 в моче, то в случае тяжелой асфиксии у недоношенных его уровень был снижен.

Приведенные данные демонстрируют, что тяжелая асфиксия при рождении недоношенного ребенка с внутриутробным инфицированием в значительной степени снижает его способность реагировать на инфекционно-воспалительный процесс должным иммунным ответом.

Как было указано выше, ИЛ-8 не только активизирует нейтрофилы, но и продлевает их жизнь, позволяя элиминировать микроорганизмы и завершить фагоцитоз, как неотъемлемую часть воспалительного ответа. Нами проведен анализ показателей белой крови у обследованных детей. Полученные данные приведены в таблицах 1 и 2.

Данные таблицы 1 демонстрируют, что для недоношенных детей в целом характерна тенденция к относительно меньшему количеству лейкоцитов в периферической крови. При этом в первые сутки жизни абсолютное количество нейтрофилов у этих детей оказалось достоверно ($P < 0,01$) ниже, чем у доношенных новорожденных, у которых уровни ИЛ-8 были более высокими. Такая тенденция прослеживается и на 3-4 сутки жизни (таблица 2), хотя в этот временной период достоверности различий нами не получено.

Таблица 1. Сравнительная характеристика показателей лейкоцитарной формулы новорожденных в первые сутки жизни, Mediana (min- max).

Параметр	Доношенные n=14	Недоношенные n=30	P
Лейкоциты, 10^9	21,15 (15,1-30,6)	16,4(7,2-70)	$>0,05$
Эозинофилы, %	2 (1-6)	1 (0-8)	$>0,05$
Палочкоядерные, %	7 (1-16)	4 (1-33)	$>0,05$
Сегментоядерные, %	49 (25-77)	42 (17-63)	$>0,05$
Лимфоциты, %	28,5 (10-66)	42,5 (25-68)	$>0,05$
Моноциты, %	8 (3-17)	9 (2-19)	$>0,05$
Нейтрофилы, 10^9	14,19 (5,95-18,64)	7,38 (1,94-90,2)	$<0,01$

Примечание: P – достоверность различий показателей между доношенными и недоношенными.

Таблица 2. Сравнительная характеристика показателей лейкоцитарной формулы новорожденных на 3-4 сутки жизни, Mediana (min- max).

Параметр	Доношенные n=8	Недоношенные n=15	P
Лейкоциты, 10^9	16,8 (13,6-27,8)	14,6 (2,8-71,2)	$>0,05$
Эозинофилы, %	1 (0-8)	2,5 (0-16)	$>0,05$
Палочкоядерные, %	4,5 (2-30)	4 (1-30)	$>0,05$
Сегментоядерные, %	59,5 (39-71)	50 (20-74)	$>0,05$
Лимфоциты, %	28 (3-38)	27 (3-52)	$>0,05$
Моноциты, %	7,5 (2-17)	7 (1-17)	$>0,05$
Нейтрофилы, 10^9	10,69 (6,3-20,85)	8,22 (1,06-42,7)	$>0,05$

Выводы.

1. Изолированное определение содержания ИЛ-8 в биологических средах у новорожденных детей как маркера инфекционно-воспалительной патологии может оказаться малоинформативным без учета ряда сопутствующих факторов. Перинатальная гипоксия оказывает значительное влияние на содержание ИЛ-8. Это влияние зависит от гестационного возраста (доношенный или недоношенный ребенок). У доношенных детей умеренная асфиксия не оказывает влияния на уровень ИЛ-8, а тяжелая асфиксия резко увеличивает его содержание в моче. У доношенных детей диагностическая значимость в виду больших разбросов уровней ИЛ-8 в моче не установлена. У недоношенных детей умеренная асфиксия и внутриутробная инфекция сопровождаются повышением концентрации ИЛ-8 в моче, что свидетельствует о сопряженности у них гипоксии и инфекционного процесса.
2. Лейкоцитарная формула сама по себе в первые сутки жизни не является достаточно информативной в плане отражения синдрома системного воспалительного ответа, особенно у недоношенных новорожденных.

Литература

1. Фрейдлин, И. С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции / И. С. Фрейдлин // Иммунология. 2001. № 5. С. 4–7.
2. A monoclonal antibody and an enzyme immunoassay for human Ala-IL-877 / N. Nashkevich [et al.] // J. Immunol. Methods. 2002. Vol. 270. P. 37–51.
3. Benjamini, E. Immunology, a short course / E. Benjamini, G. Sunshine, S. Leskowitz. WILEY-LISS, New York, 1996. 451 p.
4. Bentlin, M. R. Is Urine Interleukin-8 Level a Reliable Laboratory Test for Diagnosing Late Onset Sepsis in Premature Infants / M. R. Bentlin [et al.] // J. Trop. Pediatr. 2007. Vol. 53. P. 403–408.
5. Buck, C. Interleukin-6: a sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection / C. Buck [et al.] // Pediatrics. 1994. Vol. 93. P. 54–58.
6. Eck, M. J. The structure of tumor necrosis factor- resolution: implications for receptor binding / M. J. Eck, S. R. Sprang // J. Biol. Chem. 1989. Vol. 264. P. 17595–17605.
7. Lowenthal, J. W. Interleukin 1-dependent induction of both interleukin 2 secretion and interleukin 2 receptor expression by thymoma cells / J. W. Lowenthal, J. C. Cerottini, H. R. MacDonald // J. Immunol. 1986. Vol. 137. P. 1226–1231.
8. Weiss, M. Adjunct therapies to bacterial sepsis in the Neonate / M. Weiss, D. Burchfield // NBIN. 2004. Vol. 4(1). P. 46–50.
9. Messer, J. Evaluation of interleukin-6 and soluble receptors of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection / J. Messer [et al.] // J. Pediatr. 1996. Vol. 129. P. 574–580.
10. Ng, P. C. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecules, and C-reactive protein in preterm, very low birth weight infants / P. C. Ng [et al.] // Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed. 1997. Vol. 77. F221–F227.
11. Ng, P. C. Diagnostic markers of infection in neonates / P. C. Ng // Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed. 2004. Vol. 89. F229–F233

12. Purification and partial biochemical characterization of a human monocyte-derived, neutrophil-activating peptide that lacks interleukin-1 activity / J.-M. Schroder [et al.] // *J. Immunol.* 1987. Vol. 139. P. 3474–3483.
13. Smulian, J. C. Maternal chorioamnionitis and umbilical vein interleukin-6 level for identifying early neonatal sepsis / J. C. Smulian [et al.] // *J. Matern. Fetal Med.* 1999. Vol. 8. P. 88–4.
14. Murayama, T. Human cytomegalovirus induces interleukin-8 production by a human monocytic cell line, THP-1, through acting concurrently on AP-1- and NF-kappaB-binding sites of the interleukin-8 gene / T. Murayama [et al.] // *J. Virol.* 1997. Vol. 71. P. 5692–5695.
15. TNF receptor p55 and IL-872 and IL-877 isoforms: blood and urine levels in breast cancer patients / V. P. Shichkin [et al.] // *Journal of Immunotoxicology.* 2009. Vol. 6. P. 235–242.
16. Weitkamp, J.-H. Interleukin-8 (IL-8) Preferable to IL-6 as a Marker for Clinical Infection / J.-H. Weitkamp, J. Reinsberg, P. Bartmann // *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.* 2002. P. 1401.
17. Zurawski, G. Interleukin-13, an interleukin-4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells / G. Zurawski, J. de Vries // *Immunology Today,* 1994. Vol. 15, P. 19–24.