

Иммунный ответ плода и новорожденного ребенка.

М.В. Дегтярёва

Кафедра неонатологии ФУВ РГМУ, г.Москва.

I Всероссийская школа по клинической иммунологии

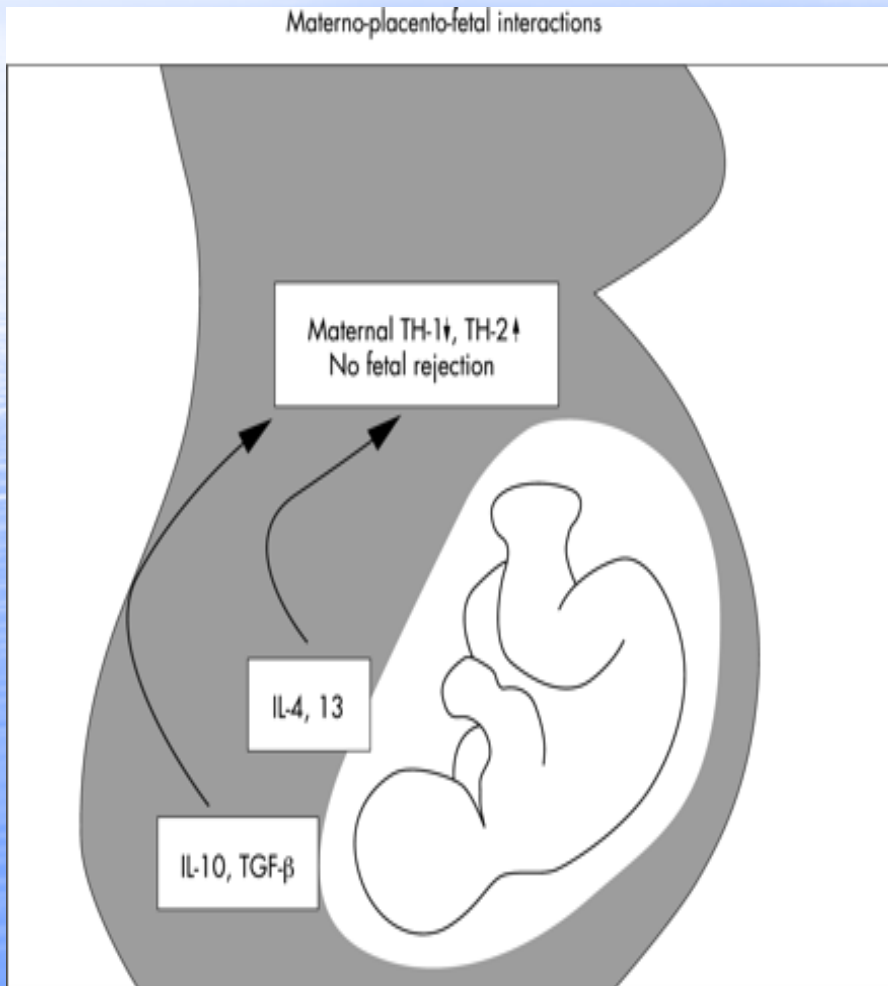
«ИММУНОЛОГИЯ ДЛЯ ВРАЧЕЙ».

Пушкиногорье, 04 февраля 2010 года.

Цитокиновые взаимоотношения

в системе «мать – плод»

(Holt P.G., 1996; Warner J.O., 2004).



Фетальные цитокины Th2 (ИЛ-4 и ИЛ-13) и Т-регуляторных клеток (ИЛ-10 и ТФР-β):

- способствуют подавлению функции материнских Th1,
- препятствуют развитию иммунного ответа матери на антигены плода,
- препятствуют отторжению плода.



Бадалян Л.О.

Вельтищев Ю.Е.

Таболин В.А.

Состояние иммунной системы новорожденного ребенка –



онтогенетически
обусловленное,
биологически
целесообразное,
позволяющее ребенку
выжить и адаптироваться
в изменяющихся
условиях окружающей
среды.

Выводы, сделанные под руководством В.А.Таболина в 1990-95 гг. (1)

- У здоровых доношенных новорожденных детей в пуповинной крови имеется особое состояние активационно-пролиферативного звена иммунного реагирования, заключающееся
- в угнетении ранних этапов (уровни продукции моноцитами ИЛ-1 β и ФНО- α , количество лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы к ИЛ-2 (CD25))
- и повышении последующих этапов (количество лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы к трансферрину, показатели спонтанной и стимулированной пролиферации лимфоцитов и отечаемости их на ИЛ-1 и ИЛ-2) при сходном со взрослыми донорами уровне продукции лимфоцитами ИЛ-2.
- При этом фенотип иммунокомпетентных клеток пуповинной крови отражает повышенную супрессорную направленность функционирования иммунной системы.

Выводы, сделанные под руководством В.А.Таболина в 1990-95 гг. (2)

- Важным информативным показателем состояния иммунной системы новорожденного ребенка в раннем периоде адаптации является уровень продукции моноцитами пуповинной крови ИЛ-1 β и ФНО- α .
- Увеличение концентрации ИЛ-1 и ФНО в пуповинной крови может служить ранним диагностическим признаком гипоксических изменений в организме новорожденного ребенка и свидетельствует **об участии данных цитокинов в патогенезе транзиторных нарушений гемоликвородинамики в раннем периоде адаптации.**
- Сывороточные концентрации ИЛ-1 и ФНО в пуповинной крови однонаправленны с уровнями клеточной продукции данных монокинов *in vitro*.

Выводы, сделанные под руководством В.А. Таболина в 1990-95 гг. (3)

- Динамика концентраций ИЛ-1 β в сыворотке периферической крови новорожденных детей с перинатальным поражением ЦНС свидетельствует о постепенном нарастании интенсивности воспалительных реакций к 3 неделе жизни и связано с тяжестью неврологических нарушений.
- Метод твердофазного иммуноферментного анализа ИЛ-1 β является высоко информативным, специфичным, экономичным и может быть применен в клинической практике в качестве раннего диагностического признака перинатального поражения ЦНС и косвенного показателя степени тяжести церебральных нарушений.
- **↑↑ИЛ-1 β** в сыворотке ассоциировано с **↓↓ массы тела при рождении**

Практические рекомендации, данные под руководством В.А. Таболина в 1990-95 гг.

- Малые количества сыворотки крови (250 мкл), необходимые для иммуноферментного определения концентрации цитокинов, а также высокая специфичность метода позволяют рекомендовать исследование уровня ИЛ-1 β в качестве оперативного, скринингового теста для выделения групп новорожденных детей, имеющих высокий риск по развитию осложнений раннего периода адаптации и неонатального периода в целом, а также в качестве оперативного контроля за эффективностью лечебных и реабилитационных мероприятий.

Функции иммунной системы новорожденного ребенка

не ограничиваются противoinфекционной защитой, а обеспечивают поддержание гомеостаза организма плода и ребенка, а также - образование органов и тканей.



ТАКТИКА ИММУНОДИАГНОСТИКИ И ИММУНОКОРРЕКЦИИ В НЕОНАТОЛОГИИ

должна основываться на 2 принципах

- 1. Учет физиологических особенностей
иммунитета новорождённого ребёнка.**
- 2. Знание патогенетических механизмов
заболевания.**

Особенности функции макрофагов и показателей системного воспаления у плода и новорожденного ребенка:



- Моноциты и макрофаги плода способны к продукции провоспалительных цитокинов.
- Лабораторные признаки системного воспаления отмечаются у здоровых доношенных новорожденных детей, по-видимому, вследствие колонизации микрофлорой кожи и слизистых оболочек в раннем периоде адаптации.
- Отсутствие клинических симптомов системного воспаления у здоровых доношенных новорожденных детей обеспечивается параллельным увеличением продукции противовоспалительных медиаторов (IL-1ra, IL-4, TGF-β).

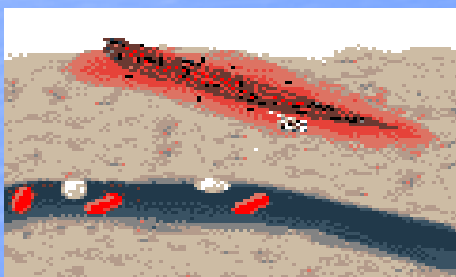
Системная воспалительная реакция у новорожденных детей.

- Г-КСФ > 500 пг/мл
- ФНО-α > 13 пг/мл
- ИЛ-1β > 10 пг/мл
- ИЛ-6 > 100 пг/мл
- ИЛ-8 > 300 пг/мл
- СРБ > 0,6 мг/дл

Прикладные аспекты и проблемы:



- **Диагностические критерии системного воспаления у новорожденных детей с учетом гестационного возраста.**
- **Тактика ведения детей с гиперергическим течением неонатального сепсиса (ГКС, НСПВС, пентоксифиллин).**
- **Тактика ведения детей с гиперергическим течением неонатальных инфекционных заболеваний (Ликопид).**
- **Роль баланса про- и противовоспалительных цитокинов в патогенезе неинфекционных заболеваний (перинатальные гипоксические поражения ЦНС, ишемическая нефропатия, ретинопатия, бронхолегочная дисплазия). Диагностика и лечение.**



Наиболее информативные показатели системного воспаления у новорожденных детей:

- Увеличение соотношения *юных форм и общего количества нейтрофилов (I/T)*.
- Увеличение уровня *C-реактивного белка* в сыворотке крови.
- Увеличение уровня *интерлейкина-8* в сыворотке крови.
- Увеличение уровня *прокальцитонина* в сыворотке крови.

Показатели системного воспалительного ответа у детей различного гестационного возраста с неонатальным сепсисом, не получавших стероидную терапию, на 3-4 сутки жизни (Бирюкова Т.В., 2008).

	Дети 25-29 недель гестации (n = 18)	Дети 30-33 недель гестации (n = 14)	Дети 34-36 недель гестации (n = 7)	Дети 37-40 недель гестации (n = 5)
ПКТ (мкг/л)	20,4 ± 7,6 (0,38-115,67)	12,1 ± 7,4 (0,49 – 91,61)	5,6 ± 2,3 (0,28 – 15,67)	28,4 ± 12,8 (1,89 - 70,48)
ИЛ – 8 (нг/л)	729,18 ± 386,44 (44 - 5932)	244,36 ± 105,78 (52 - 1206)	840,67 ± 700,05 (0 – 4016)	423,5 ± 244,46 (74 - 972)
СРБ (мг/л)	12,13 ± 3,95 (1,2 - 60)	16,82 ± 11,33 (1,7 - 145,6)	15,9 ± 7,48 (2,2 – 53,1)	34,98 ± 26,77 (4,2 – 129,8)

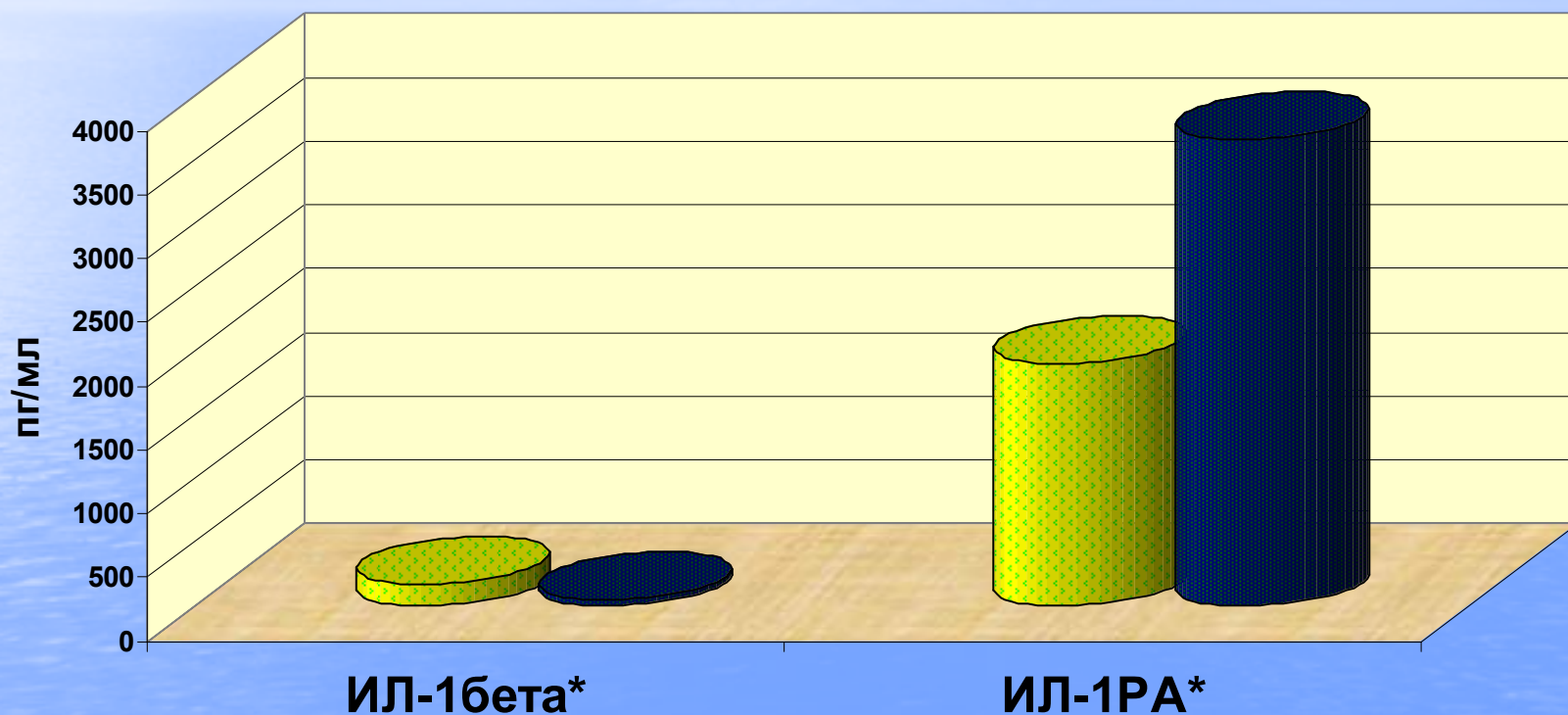
Влияние терапии кортикостероидами на показатели системного воспаления и их диагностическую чувствительность при сепсисе на 3-4 сутки жизни (Бирюкова Т.В., 2008).

	Дети, получившие кортикостероиды (n=35).	Дети, не получавшие кортикостероиды (n=44).	P
<u>ПКТ</u> (мкг/л) (M±m) ДЧ при ПКТ ≥2 мкг/л	4,0 ± 0,8	16,3 ± 4,1	P<0,05
	33,3	81,8	
<u>ИЛ-8</u> (нг/л) (M±m) ДЧ при ИЛ-8 ≥70 нг/л	391 ± 125	574±199	-
	87,5	78,4	
<u>СРБ</u> (мг/л) (M±m) ДЧ при СРБ ≥6 мг/л	8,5 ± 1,3	16,8 ± 4,7	P<0,05
	57,6	44	
<u>Лейкоциты</u> (x10 ⁹ /л) (M±m) ДЧ при лейкоцитозе > 15×10 ⁹ /л	22,7 ± 2,9	19,8 ± 1,9	-
	63	50	

Неблагоприятные прогностические критерии при неонатальном сепсисе:

- Абсолютная *лимфопения, нейтропения*.
- Низкий уровень *IgG* в сыворотке крови.
- Низкий уровень *интерлейкина-1 β* в сыворотке крови.
- Низкий уровень *интерлейкина-6* в сыворотке крови.
- Малое количество эозинофилов.

Концентрации ИЛ-1 β и ИЛ-1РА в сыворотке крови выживших и умерших детей с бактериальными пневмониями и неонатальным сепсисом.



■ Выжившие дети.

■ Умершие дети.

- Уровни митоген-индуцированной продукции **IL-6** лейкоцитами новорожденных в ОРПН, в последствии умерших, были ниже, чем у выживших детей (**2.3 [.01; 3.2] ng/ml (n=8) versus 7.2 [3.1; 12.1] ng/ml (n=86); p= .004**).
- Уровень митоген-индуцированной продукции **IFN-γ** снижен у новорожденных с гестационным возрастом **менее 33 недель** по сравнению с детьми с гестационным возрастом **более 33 недель** (**13.3 pg/ml [4; 21] versus 24 pg/ml [8; 31]; p= .019**).

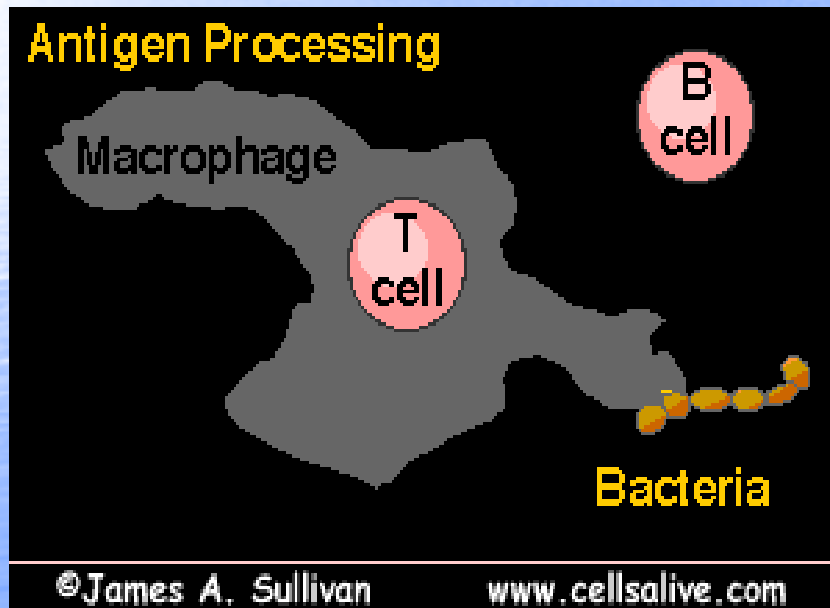
The levels of spontaneous and mitogen-induced cytokine production by peripheral blood leukocytes (PBL) of neonates with and without laboratory proven presence of CMV and/or HSV in blood, urine or saliva on the first week of life.

Cytokines	Patients in NICU with proven CMV or/and HSV infection	Patients in NICU without proven CMV or/and HSV infection	P (Mann-Whitney U Test)
IL-8 induced (ng/ml)	12.1 [1.8; 25.8] n=47	33.8 [15.6; 50.8] n=29	.003
IL-1 spont. (pg/ml)	4.2 [3; 10] n=43	10 [3; 21.5] n=46	.049
IFN-γ spont. (pg/ml)	3 [3; 15] n=50	8.32 [3; 21.2] n=44	.02

Каковы особенности иммунитета у новорожденных детей?

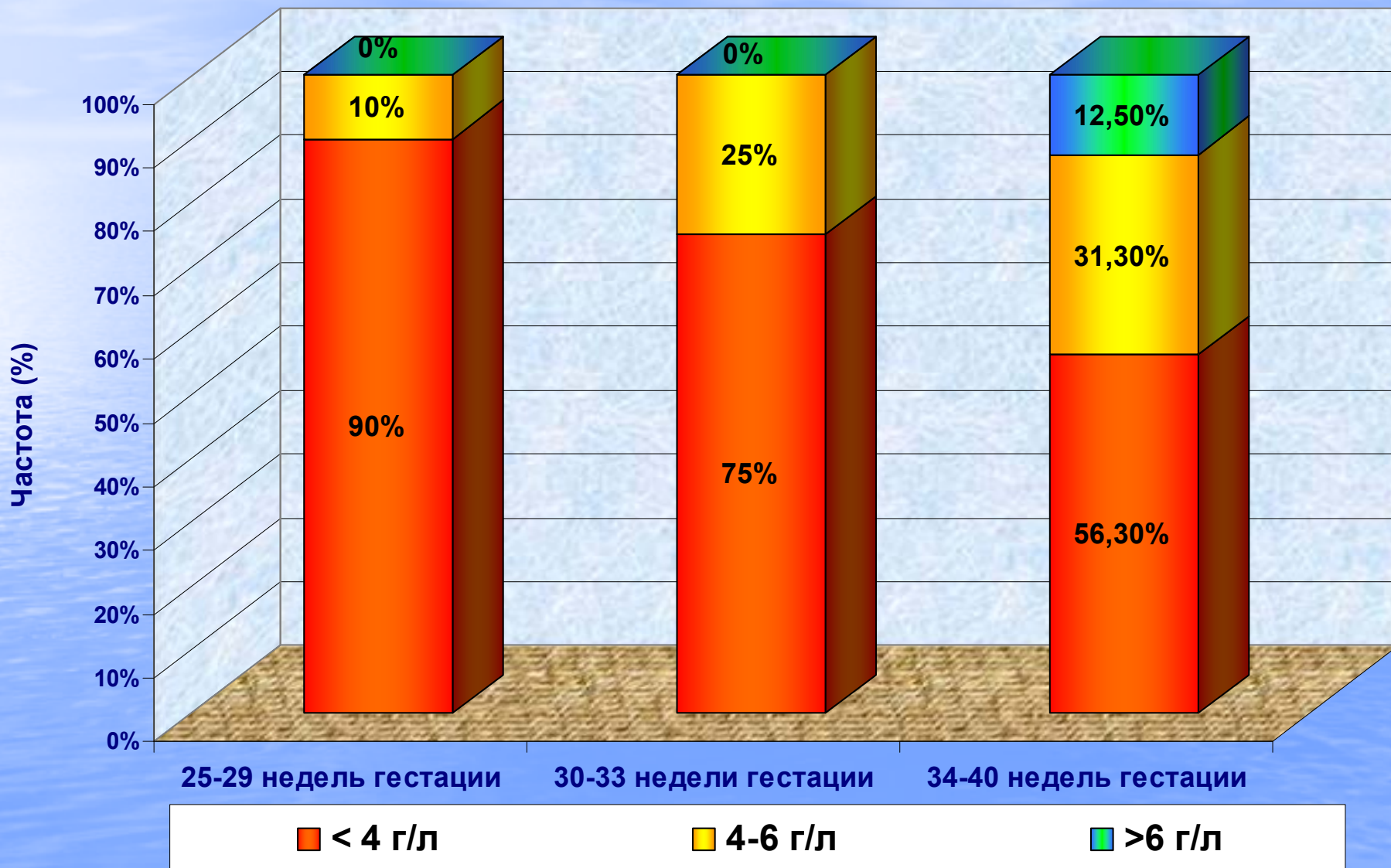


Особенности В-лимфоцитов плода и новорожденного ребенка:



- В-лимфоциты плода способны к синтезу IgM.
- Затруднена реаранжировка генов и изотипическое переключение синтеза с IgM на IgG.
- Плод получает IgG от матери трансплацентарно после 35-ой недели внутриутробного развития.
- При воздействии высоких доз антигена неонатальные В-лимфоциты гибнут путем апоптоза.

Уровни IgG в сыворотке крови детей с сепсисом на 3-4 сутки жизни в зависимости от гестационного возраста.



Уровни IgG (г/л) в сыворотке крови детей
с ранним неонатальным сепсисом на 3-4 сутки жизни
в зависимости от гестационного возраста
(Бирюкова Т.В., 2008).

	M±m (minimum-maximum)
25-29 недель гестации (n=30)	2,93 ± 0,17 (1,7 – 5,32)
30-33 недели гестации (n=29)	3,57 ± 0,17 (2,42 – 5,8)
34-40 недель гестации (n=16)	4,18 ± 0,42 (2,45 – 8,55)

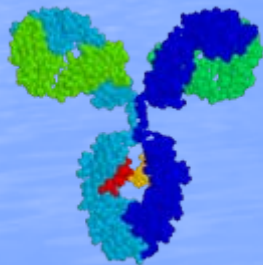
**Уровни естественных аутоантител в сыворотке
крови пациентов ОРИТН и здоровых
новорожденных детей (Гордеева Е.А., 2007)**

Аутоантитела против:	Пациенты ОРИТН <u>выжившие</u> (NEC, pneumonia, hypoxic CNS damage) n=29	Пациенты ОРИТН - <u>умершие</u> (NEC, pneumonia, hypoxic CNS damage) n=10	Здоровые ново- рожден- ные N=10
Pulmonary Lu-0.6-300	+++	-	+
Pulmonary Lu-0.6-80	+++	-	+
BMP	+++	-	+
S100	+++	-	+
MP-65	+++	-	+
Serotonin	+++	-	+
Enterocyte GaM-01-250	+++		+
Enterocyte GaS-03-300	+++		+

Прикладные аспекты и проблемы:



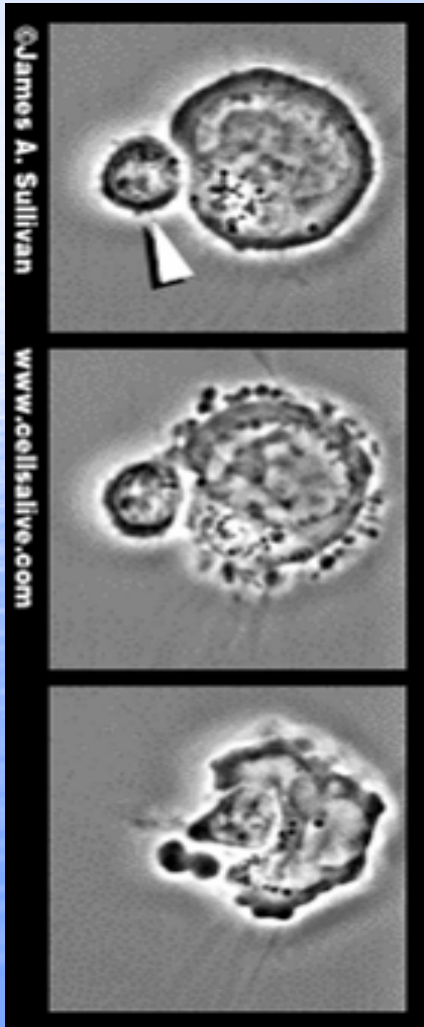
- Информативность серологической диагностики?
- Заместительная терапия препаратами иммуноглобулинов для внутривенного введения позволяет снизить уровень летальности при неонатальном сепсисе в 2 раза.
- Превентивное введение ВВИГ?
- Целесообразность и технологии вакцинации детей в неонатальном периоде?



Профилактическое назначение стандартных ИГВВ может быть патогенетически обоснованным -

- У новорожденных детей с критически низким уровнем содержания IgG в сыворотке крови (3 г/л и ниже) до достижения концентрации IgG не ниже 4-6 г/л.
- У недоношенных детей с дыхательными нарушениями неинфекционного генеза (БГМ, ателектазы, массивная аспирация околоплодными водами), составляющими группу высокого риска по развитию бактериальной пневмонии или нозокомиальной инфекции другой локализации, а также генерализации инфекционного заболевания.
- У недоношенных детей с массой тела при рождении менее 1200 г 1 раз в неделю в течение первого месяца жизни.

Особенности Т-лимфоцитов плода и новорожденного ребенка:



- **Высокие уровни спонтанной экспрессии маркеров активации лимфоцитов (CD25; CD71; DR).**
- **Высокий уровень спонтанной пролиферации лимфоцитов в РБТЛ.**
- **Затруднена кооперация Т- и В-лимфоцитов в адаптивном иммунном ответе вследствие низкого уровня экспрессии CD40L.**
- **Большая доля наивных лимфоцитов с маркером CD45RA.**
- **Усиление цитотоксичности в ответ на ИЛ-2, высокая функциональная активность ЛАК.**

Прикладные аспекты и проблемы:



- **Несовершенство диагностики, невозможность оценки цитотоксичности в клинических условиях и терапевтического воздействия на нее.**
- **Отсутствие четких критериев иммунной недостаточности в неонатальном периоде (лейкопения, нейтропения, лимфопения).**
- **Отсутствие четких критериев эффективности вакцинации**

Сравнение частот абсолютной лимфопении и абсолютной нейтропении при раннем неонатальном сепсисе

(Ашиткова Н.В., Бирюкова Т.В., 2008).

	Абсолютная лимфопения ($\leq 2 \times 10^9 / \text{л}$).	Абсолютная нейтропения ($\leq 1,8 \times 10^9 / \text{л}$).	P (точный 2-сторонний критерий Фишера)
Частота цитопении	13 из 79 (16,5%)	3 из 79 (3,8%)	0,015

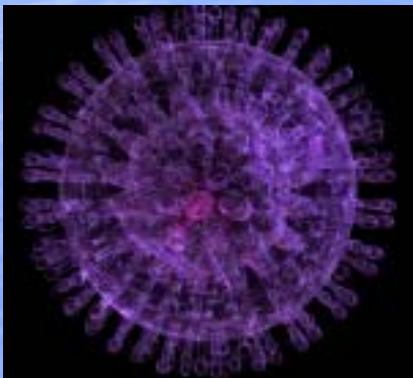
Уровни летальности
в группах новорожденных детей
с гнойно-септической патологией
с однократной и стойкой абсолютной
лимфопенией.

	При <u>однократной</u> лимфопении	При <u>стойкой</u> лимфопении	P (точный 2-сторонний критерий Фишера)
Количество умерших детей	6 из 64 (9,4%)	12 из 41 (29,3%)	0,02

Особенности противовирусного иммунитета у новорожденных детей.



- **Малая клеточная продукция и низкая концентрация ИФН- α и ИФН- γ в сыворотке крови.**
- **Дальнейшее угнетение синтеза эндогенного ИФН при бактериальных и вирусных инфекциях и при перинатальной гипоксии.**
- **Быстрое развитие абсолютной лимфопении при тяжелых неонатальных инфекциях, снижение количества CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов.**
- **Достоверное усиление цитотоксичности лимфоцитов и макрофагов под действием экзогенных ИФН и/или ИЛ-2 (Montagna N., 1988).**



Ближайшие перспективы развития прикладных аспектов неонатальной иммунологии:

- Иммунологический мониторинг за состоянием плода и новорожденного.
- Совершенствование терапевтических подходов при осложненном течении перинатального периода.
- Разработка мер профилактики перинатальной патологии с позиций доказательной медицины.





Большое спасибо!





Спасибо за внимание!!!

