

РАННИЕ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА- $\alpha 2\beta$ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ НОВОРОЖДЕННЫХ С СИНДРОМОМ УВЕЛИЧЕННОЙ ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Свинарева М.Г.¹, Клещенко Е.И.¹, Колесникова Н.В.¹

¹ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Краснодар, Россия (350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4), e-mail: akulinka.81@mail.ru

В работе проведена оценка клинико-иммунологической эффективности рекомбинантного интерферона- $\alpha 2\beta$ (Виферона) в составе традиционной терапии у новорожденных с синдромом увеличенной вилочковой железы (СУВЖ) и клинико-лабораторными проявлениями внутриутробной инфекции (ВУИ). Показано, что у новорожденных с СУВЖ характерно статистически значимое снижение продукции цитокинов, в большей степени – провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИФН γ , ИЛ-2), что нашло подтверждение в достоверном уменьшении величины провоспалительного индекса (ПВИ) относительно такового у детей с ВУИ без признаков СУВЖ, а также угнетение фагоцитарной функции нейтрофильных гранулоцитов. Клинически эти изменения сопровождались признаками сочетанной ВУИ (врожденная пневмония с конъюнктивитом или везикулопустулезом) на фоне синдрома повышенной нервно-рефлекторной возбудимости. Включение в традиционную терапию новорожденных с СУВЖ и ВУИ рекомбинантного интерферона- $\alpha 2\beta$ позволяет наблюдать позитивные клинические и иммуномодулирующие эффекты в ранние (14 дней от начала терапии) сроки наблюдения, когда имеет место достоверная тенденция к нормализации исследуемых показателей.

Ключевые слова: цитокины, синдром увеличенной вилочковой железы (СУВЖ), внутриутробная инфекция.

EARLY CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL EFFECTS INTERFERON- $\alpha 2\beta$ IN COMPLEX THERAPY OF NEWBORNS WITH THE SYNDROME OF THE MAGNIFICATION THYMIC GLAND

Svinareva M.G., Kleshchenko E.I., Kolesnikova N.V.

Kuban state medical university Ministries of Health of Russia, Krasnodar, Russia (350063, Krasnodar, street the Gray hair, 4), e-mail: akulinka.81@mail.ru

In work the estimation clinical and immunological efficiency interferon - $\alpha 2\beta$ (Viferon) in structure of traditional therapy at newborns with a syndrome of the magnification thymic gland (SMTG) and clinico-laboratory displays of a fetal infection (PIC) is lead. It is shown, that at newborns with SMTG statistically significant depression of production of cytokines is characteristic, in a greater degree - proinflammatory (IL-1, IL-6, IFN, IL-2), that has found confirmation in authentic decrease of size of a proinflammatory index (PII) concerning those at children with PIC without attributes SMTG, and also oppression of phagocytic function of neutrocytes. Clinically these changes were accompanied by attributes mix-infection (a congenital pneumonia with a conjunctivitis or vezikulopustulesis) on a background of a syndrome of the increased nervously-reflex excitability. Including in traditional therapy of newborns with SMTG and PIC interferon - $\alpha 2\beta$ allows to observe positive clinical and immunomodulation effects in early (14 days from the beginning of therapy) terms of observation when the authentic tendency to normalization of investigated parameters takes place.

Keywords: cytokines, a syndrome of the magnification thymic gland (SMTG), a fetal infection.

Введение

Известно, что здоровье новорожденных детей в значительной степени обусловлено состоянием иммунитета, которое имеет признаки иммунной недостаточности относительно детей старшего возраста и взрослых лиц [1; 5]. В этой связи актуален вопрос о морфологическом и функциональном состоянии вилочковой железы (ВЖ) ребенка, которая является центральным органом иммунной системы и относится к нейроэндокринной системе, так как ее эпителиальные клетки вырабатывают вещества, обеспечивающие созревание и функциональную активность лимфоидной системы [1; 4]. Известно, что

синдром увеличенной вилочковой железы (СУВЖ) чаще всего формируется внутриутробно и является проявлением нарушения функции иммунной и эндокринной систем. При этом в формировании СУВЖ одно из главных мест занимает внутриутробное инфицирование (ВУИ) [4]. Доказано, что дети с СУВЖ, исходя из развития дисбаланса в их иммунной системе [6], составляют группу риска по возникновению различных заболеваний [4; 7; 8]. Это обуславливает интерес к дальнейшему изучению клинко-иммунологического статуса новорожденных с СУВЖ, а также к определению новых подходов к их иммунокоррекции.

Цель: на основании клинко-лабораторного исследования характера клинических проявлений и изменений в состоянии иммунологического статуса у новорождённых детей с СУВЖ оптимизировать их комплексную традиционную терапию с помощью рекомбинантного интерферона- $\alpha 2\beta$ (Виферона).

Материалы и методы исследования

Обследовано 106 новорожденных (38-42 недель гестации, масса тела при рождении от 2980 до 4740 г), которые были распределены по клиническим группам (основная и группа сравнения) с учетом наличия или отсутствия подтвержденного диагноза (СУВЖ). **Первую (1), или основную группу,** составили 50 новорождённых детей с подтвержденным данными рентгенологического и ультразвукового исследования диагнозом СУВЖ и признаками ВУИ. В зависимости от вида проводимой терапии были выделены подгруппы - **1.1 подгруппа** – 25 (50%) новорожденных, получавших комплексную традиционную терапию (КТТ) с включением в нее Виферона; **1.2 подгруппа** - 25 (50%) детей с изолированной комплексной традиционной терапией. **Вторую (2), или группу сравнения,** составили 20 новорождённых, которым по результатам проведенного обследования исключен диагноз СУВЖ, но были выявлены клинко-лабораторные данные инфекционного процесса; группа также была распределена на две подгруппы: **2.1** – 10 (50%) детей, получавшие Виферон на фоне КТТ, и **2.2 подгруппа** - 10 (50%) детей без СУВЖ, получавших только КТТ. **Группу контроля** составили 15 относительно здоровых новорожденных детей.

Диагноз СУВЖ был установлен на основании расчета кардио-тимико-торокального индекса (КТТИ) на рентгеновских снимках грудной клетки в прямой проекции и подтвержден данными ультразвукового исследования ВЖ. Новорожденным с ВУИ проводилось КТТ по общепринятым схемам, включающее антибактериальную, инфузионную терапию, при необходимости - подключение парентерального питания и респираторной поддержки. Препарат рекомбинантного интерферона- $\alpha 2\beta$ (Виферон) использовался по следующей схеме: на 3-5 сутки жизни по 1 суппозиторию 150 000 МЕ per rectum / 2 раза в сутки (утро - вечер) в течение 10 дней.

Клинико-иммунологическая эффективность лечения оценивалась через 10-14 дней после окончания курса лечения. С целью оценки иммунотропных эффектов сравниваемых видов терапии у пациентов с СУВЖ оценивали спектр сывороточных про- и противовоспалительных цитокинов: ИЛ-1 β , РаИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИФН- α , ИФН- γ осуществляли методом ИФА с использованием соответствующих диагностикумов ООО «Цитокин» (Россия, г. Санкт-Петербург) на иммуноферментном анализаторе ACCENT (Финляндия) - до лечения и в динамике наблюдения, сопоставляя данные раннего мониторинга (14 дней) с таковыми у практически здоровых детей и с их исходным фоновым значением (до лечения). Фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов (НГ) периферической крови определяли по общему и относительному содержанию активно-фагоцитирующих клеток (%ФАН, ФАН абс), фагоцитарному числу (ФЧ), фагоцитарному индексу (ФИ), проценту (П%) и индексу (ИП) переваривания по модифицированному методу И.В. Нестеровой (1992). В качестве тест-объекта использовали музейный штамм золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus* лабораторный штамм № 209).

Статистический анализ проводился на персональном компьютере с использованием пакета статистических программ Microsoft Excel 7.0 (Windows 2000), программы «СТАТИСТИКА» 6.0; достоверность различий оценивалась с помощью вычисления параметрического критерия Стьюдента, параметрического критерия Фишера для групп малых выборок.

Результаты исследования и их обсуждение

Оценка антенатального и раннего постнатального периодов развития детей клинических групп показала, что у большинства детей при рождении отмечались признаки перенесённой асфиксии, что подтверждалось низкой оценкой по шкале Апгар - менее 6 баллов на 1-й минуте у 54% детей. По данным дальнейшего наблюдения, 50 детей из основной группы и 20 из группы сравнения имели клинико-лабораторные признаки инфекционного заболевания. Постановка диагноза врождённой пневмонии (ВП) проводилась на основании основных и вспомогательных критериев ее диагностики [2] с обязательным проведением рентгенографии грудной клетки в прямой проекции. У детей с СУВЖ гораздо чаще встречалось сочетание врожденной пневмонии с везикулопустулезом (36%) или конъюнктивитом (48%), тогда как для детей без СУВЖ основной патологией являлась врожденная пневмония (45%).

Показано, что при СУВЖ в сочетании с ВУИ из-за достоверно более высокого лейкоцитоза абсолютное содержание активно-фагоцитирующих клеток с признаками угнетения поглотительной (ФИ) и переваривающей (ИП) способности оказывается достоверно выше, чем у здоровых детей. Сравнение показателей фагоцитарной функции НГ

в основной клинической группе (СУВЖ и СУВЖ+ВУИ) с таковыми в группе сравнения (ВУИ) выявило в последней более выраженное снижение показателей переваривания (%П, ИП) и более высокий процент активно фагоцитирующих НГ (%ФАН) (рис. 1). Выявленную у новорожденных с СУВЖ функциональную депрессию НГ следует расценивать как прогностически неблагоприятный фактор, свидетельствующий о клинической тяжести инфекционного процесса и риска присоединения вторичных инфекций, наиболее выраженный при одновременном выявлении СУВЖ и ВУИ.

Исследование сывороточной концентрации ИЛ-1 β показало его достоверное снижение у новорожденных основных клинических групп относительно таковой у здоровых новорожденных, наиболее выраженное (в 10 раз) - при наличии в анамнезе СУВЖ, и менее выраженное (в 3 раза) – в группе сравнения (ВУИ) (рис. 2).

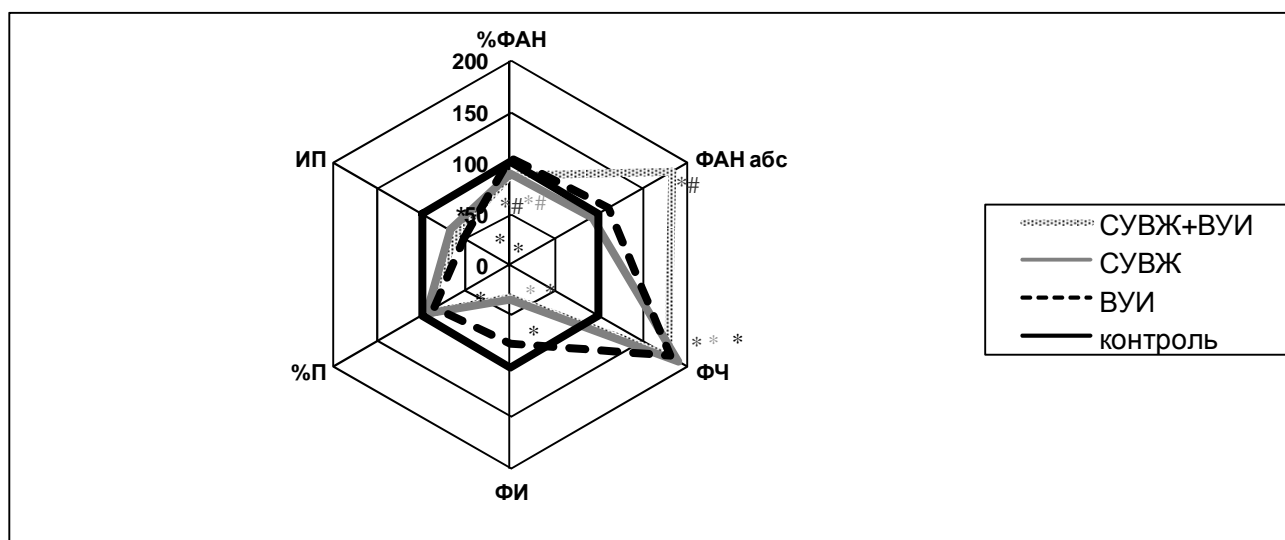


Рис. 1 Фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов у новорожденных с СУВЖ (в % от контроля)

Примечание: *- достоверность отличий от контроля ($p < 0,01$),

- достоверность отличий от группы сравнения (ВУИ) ($p < 0,01$).

У новорожденных с СУВЖ+ВУИ концентрации противовоспалительного цитокина - РаИЛ-1 превышала контроль в 4 раза, тогда как у новорожденных группы сравнения (ВУИ) имелась лишь тенденция к его возрастанию. Наряду с этим уровень содержания ИЛ-6 у пациентов основной клинической группы (СУВЖ) был почти в 3,5 раза ниже контрольного, тогда как у детей с ВУИ наблюдалась лишь тенденция к снижению данного показателя. Во всех клинических группах имело место достоверное снижение уровня содержания ИЛ-2 с достоверными межгрупповыми различиями: содержание ИЛ-2 в основной клинической группе новорожденных (СУВЖ+ВУИ) было в 1,7 раза выше, чем у новорожденных с ВУИ. По сравнению с физиологической нормой новорожденных выявлено также выраженное снижение концентрации ИФНа у детей с СУВЖ+ВУИ, новорожденных с ВУИ (в 15 раз), а снижение концентрации ИФНу имело место как у детей с ВУИ (в 1,8 раза), так и у

новорожденных с СУВЖ и ВУИ (в 1,4 раза). Показано также более выраженное снижение содержания ИЛ-4 у детей с СУВЖ+ВУИ (в 5 раз ниже нормы), чем у новорожденных с ВУИ (в 1,2 раза ниже нормы).

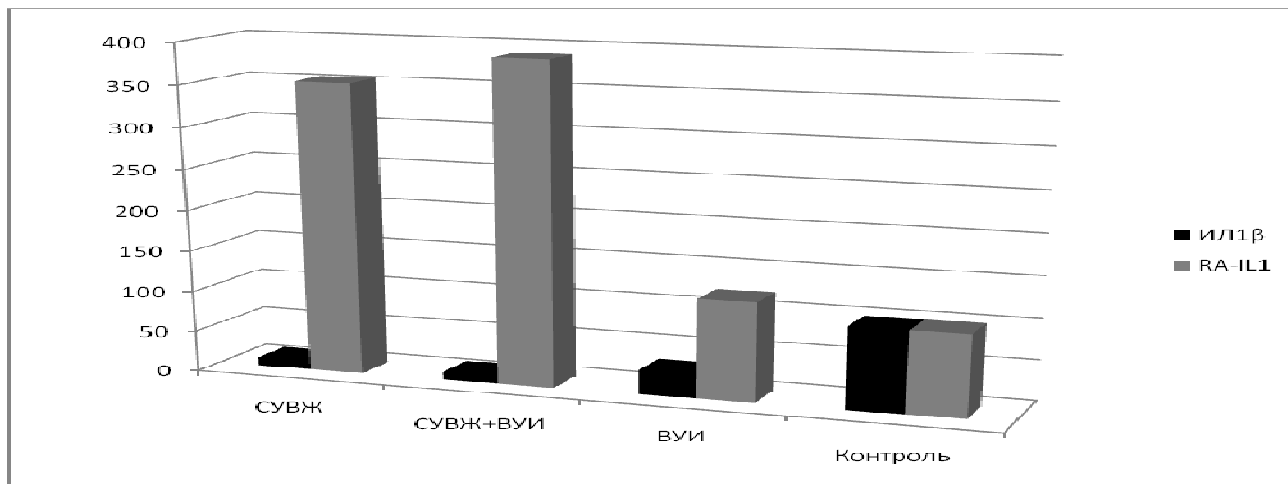


Рис. 2 Изменение ИЛ-1β и его рецепторного антагониста (РА-ИЛ1) в периферической крови новорожденных с СУВЖ (в % от контроля).

Таким образом, у новорожденных с СУВЖ выявлена общая для всех клинических групп направленность изменений цитокинового статуса в виде преимущественного снижения его провоспалительного потенциала со смещением баланса в сторону противовоспалительных цитокинов, что подтверждалось расчетом провоспалительного индекса (ПВИ) по отношению суммы провоспалительных (ИЛ-1β+ИЛ-6+ИФНγ) цитокинов к сумме противовоспалительных (РаИЛ-1+ИЛ-4) и может быть следствием функциональной неполноценности тимических клеток-продуцентов цитокинов. В частности, установлено его

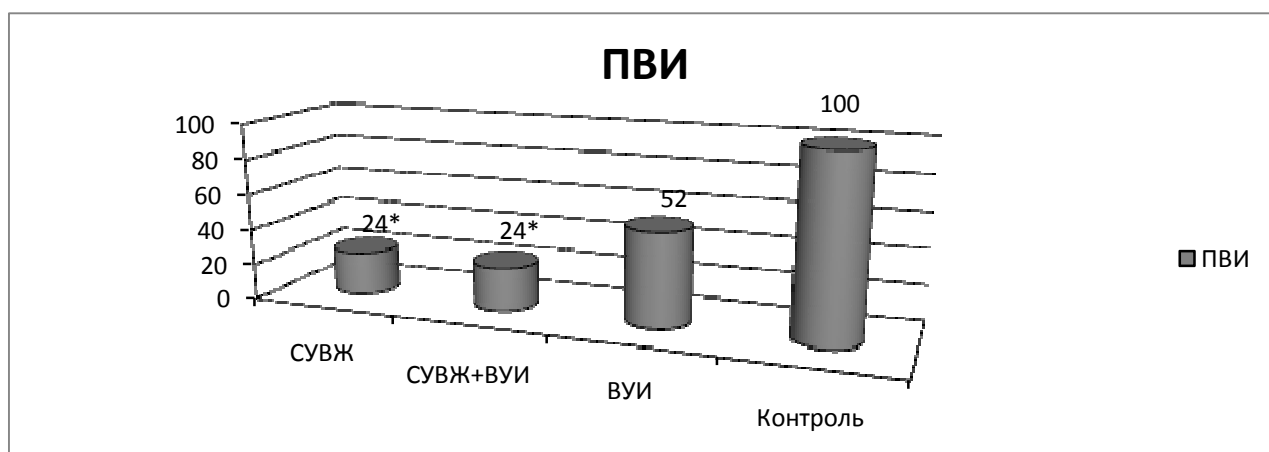


Рис. 3 Изменение соотношения про- и противовоспалительных цитокинов у новорожденных с СУВЖ (в % от контроля)

Примечание: * - достоверность отличия от контроля $p < 0,01$

достоверное снижение в 4 раза у новорожденных с СУВЖ, тогда как в группе сравнения (ВУИ) отмечено только двукратное его уменьшение (рис. 3).

В свою очередь это обосновывает целесообразность включения в КТТ детей с СУВЖ элементов иммуномодулирующей терапии с использованием рекомбинантного

интерферона- $\alpha 2\beta$ - препарата Виферон по предлагаемой схеме. Установлено, что использование Виферона в составе традиционной терапии привело достоверному сокращению продолжительности пневмонии на 23,6% ($p < 0,001$) у детей с СУВЖ и ВУИ, и на 14,6% ($p < 0,05$) - у новорожденных группы сравнения (ВУИ без СУВЖ). Клинический эффект Виферона также проявлялся: в укорочении продолжительности периода тяжелого состояния новорожденных детей с СУВЖ (в 1,3 раза) и в группе сравнения (в 1,5 раза); более быстром снижении проявлений инфекционного токсикоза, что привело к укорочению длительности инфузионной, антибактериальной терапии и к уменьшению количества курсов последней (в группе новорожденных с СУВЖ и ВУИ на 25,2%, а в группах новорожденных с ВУИ без СУВЖ - на 11,5%); статистически значимом ($p < 0,05$) сокращении длительности ИВЛ (на 29,6% у детей основной группы и 23,1% детей группы сравнения), а положительная динамика в целом позволила перейти от зондового кормления к грудному вскармливанию в более ранние сроки (на 3-4 дня раньше) с соответствующей более ранней стабильной прибавкой массы тела. Наряду с этим применение Виферона в КТТ приводило к достоверному ($p < 0,001$) уменьшению длительности пребывания в стационаре (на 3-5 дней), а также позволило 7 (28%) детям из 1.1 подгруппы, 13 (61,9%) - из 1.3 подгруппы и 2 (20%) - из группы сравнения выписаться из родильного дома на 7-10 сутки жизни, минуя второй этап выхаживания. Между тем у детей, которым проводилась только КТТ, отмечалась отрицательная динамика клинических синдромов в виде нарастания дыхательных нарушений и интоксикации, что привело к необходимости более длительной ИВЛ и более длительному пребыванию в отделении реанимации.

Оценка иммуностропных эффектов предлагаемой КТТ с включением Виферона и изолированной КТТ относительно исходных данных проводилась в ранние (через 10-14 суток) сроки после начала терапии по наиболее информативным показателям фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов и уровню содержания цитокинов периферической крови новорожденных. У детей с сочетанием СУВЖ и ВУИ, находящихся 14 дней на КТТ, была отмечена лишь тенденция к увеличению %ФАН и ФИ, а показатели переваривания фагоцитов оставались на исходном уровне (табл. 1). При этом включение Виферона в традиционную схему лечения детей позволило нормализовать число активных фагоцитов. В группе новорожденных с ВУИ (без СУВЖ) оценка ранних эффектов КТТ в сочетании с Вифероном показала дальнейшее нарастание %ФАН, ФИ, ИП, наиболее выраженное при использовании Виферона (табл. 1), что может свидетельствовать о недостаточности 14 дней наблюдения для выявления иммуностропных эффектов Виферона в составе КТТ.

Оценка сравниваемых видов терапии у детей основной группы (СУВЖ+ВУИ) и группы сравнения (ВУИ) на показатели цитокинового статуса в динамике наблюдения

обнаружила преимущества комплексной иммуномодулирующей терапии. Так, КТТ относительно исходных данных не приводила к изменению концентрации ИЛ-1 β (в группе СУВЖ+ВУИ), ИФНа (в группе СУВЖ+ВУИ, при ВУИ), ИЛ-2 (в группе с ВУИ), а также ИЛ-6 (у новорожденных с СУВЖ+ВУИ). Между тем при использовании в КТТ Виферона лишь содержание ИФНа у детей с ВУИ и ИЛ-6 – у детей с СУВЖ+ВУИ во все сроки наблюдения находилось на уровне исходных. Позитивные результаты оценки интерферонового статуса у детей, получавших в составе КТТ Виферон, могут быть обусловлены не только его иммуномодулирующими эффектами, но и известной его способностью усиливать выработку собственного эндогенного интерферона [3].

Таблица 1.

Влияние иммуномодулирующей терапии на показатели фагоцитарной функции нейтрофильных гранулоцитов новорожденных с СУВЖ в ранние сроки наблюдений (14 дней) (M \pm m,p)

Группа	%ФАН, %	ФИ, у.е	ИП, у.е
СУВЖ +ВУИ (до лечения)	40,40 \pm 0,29*	1,62 \pm 0,03*	1,08 \pm 0,04*
СУВЖ+ВУИ (КТТ)	43,00 \pm 2,34	2,02 \pm 0,15*#	1,00 \pm 0,10*
СУВЖ +ВУИ (КТТ+Виферон)	46,67 \pm 3,65#	1,93 \pm 0,14*#	1,24 \pm 0,10*#
ВУИ (до лечения)	48,33 \pm 0,67	1,72 \pm 0,02*	0,92 \pm 0,02*
ВУИ (ТТ)	51,40 \pm 3,16*	1,91 \pm 0,17*	1,03 \pm 0,20*
ВУИ (ТТ+Виферон)	52,75 \pm 2,11*#	1,93 \pm 0,17*	1,03 \pm 0,10*
Здоровые новорожденные (контроль)	46,60 \pm 1,40	5,10 \pm 0,40	1,80 \pm 0,16

Примечание: * - достоверность отличий от контроля (p<0,01)

#-достоверность отличий от исходного фона – до лечения (p<0,01)

Важно отметить, что у детей с ВУИ традиционная терапия не только не снижала исходно высокий уровень содержания РаИЛ1, но и стабильно повышала его с 14-го дня до конца мониторинга, тогда как терапия с Вифероном достоверно снижала содержание данного цитокина, начиная с ранних сроков наблюдения.

Преобладание иммуотропных эффектов терапии с Вифероном в основном в ранние сроки мониторинга, а также отсутствие эффектов в отношении содержания ИЛ-6 и ИФНа демонстрирует необходимость пролонгированной терапии Вифероном и повторных курсов виферонотерапии, поскольку выход в устойчивую иммунологическую ремиссию наблюдается не ранее чем через 3-6 месяцев после проведения данного курса терапии.

Заключение: анализируя полученные данные, в целом следует заключить, что выявленные клинические особенности у новорожденных с СУВЖ, имеющих клинико-лабораторное подтверждение инфекционного процесса, а также оценка функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов и состояния цитокинового статуса являются объективным обоснованием целесообразности включения в их комплексную традиционную терапию рекомбинантного интерферона- α 2 β препарата Виферон.

Список литературы

1. Адищева Н.Д. Клинико-иммунологические аспекты при синдроме тимомегалии / Адищева Н.Д. [и др.] // Аллергология и иммунология. - 2004. - С. 31.
2. Антонов А.Г. Внутриутробная пневмония (критерии диагностики и стандарты лечения) / Антонов А.Г. [и др.] // Методические рекомендации. - М., 1997. – С. 20.
3. Ковалева С.В. Рекомбинантный интерферон- α -Виферон в иммунореабилитации часто и длительно болеющих детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Ростов-на-Дону, 2002. – 23 с.
4. Кузьменко Л.Г. Лечебно-профилактическая помощь детям с увеличенной вилочковой железой // Педиатрия. – 1996. – № 6. – С. 63–69.
5. Нестерова И.В. Препараты интерферона-альфа в клинической практике // Российский аллергологический журнал. - 2010. - № 2. – С. 43-52.
6. Никулин Л.А. Иммуномодулирующая терапия рекомбинантным интерфероном альфа-2b у детей с тимомегалией / Никулин Л.А. [и др.] // Педиатрическая фармакология. — 2007. — Т. 4, № 4 . — С. 26-29.
7. Сорокопыт З.В. Некоторые показатели состояния здоровья новорожденных детей с синдромом увеличенной вилочковой железы / Сорокопыт З.В. [и др.] // Материалы V Российского форума «Здоровье детей: профилактика социально значимых заболеваний». – СПб., 2011. – С. 183-184.
8. Халматова В.Т. Иммунологическая реактивность и состояние активационных маркеров у детей с тимомегалией при острых бронхолегочных заболеваниях // Вестник врача общей практики. - 2005. - № 1. – С. 21-22.

Рецензенты:

Нестерова Ирина Вадимовна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник ЦНИЛ ГБОУ ВПО «КубГМУ» Минздрава России, г. Краснодар.

Назаретян Вараздат Гришаевич, профессор, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры факультетской педиатрии ГБОУ ВПО «КубГМУ» Минздрава России, г. Краснодар.