

## Особенности клеточного и гуморального иммунитета у новорожденных с язвенно-некротическим энтероколитом

И.Ю.КАРПОВА, В.В.ПАРШИКОВ

### Features of immune status at newborns with necrotizing enterocolitis

I.Yu.KARPOVA, V.V.PARSHIKOV

Нижегородская государственная медицинская академия  
Городская клиническая больница №1, Нижний Новгород

В детской городской больнице № 1 с 2006 по 2009 гг. наблюдалось 80 больных с язвенно-некротическим энтероколитом (ЯНЭК). Исследование показателей клеточного и гуморального иммунитета выполнено 40 (50%) больным. Негативное воздействие на формирование иммунной системы оказывали вредные привычки родителей, острые и хронические заболевания матерей, внутриутробное инфицирование плода, хроническая гипоксия, осложнения во время родов. Показатели иммунограмм пациентов с ЯНЭК отражают клиническую картину заболевания, но не являются специфичными, поэтому могут являться дополнительным диагностическим критерием прогнозирования воспалительного процесса.

*Ключевые слова:* новорожденный, язвенно-некротический энтероколит, иммунитет

80 newborns with necrotizing enterocolitis were observed from 2006 – 2009 in Nizhny Novgorod Children's Municipal Clinical Hospital No 1. The research of parameters cellular and humoral immunity is executed 40 (50%) patients. The negative influence on formation immune system was rendered by harmful habits of the parents, sharp and chronic diseases of the mothers, intrauterine infection, chronic hypoxia, complication during childbirth. The parameters immunograms of the patients with necrotizing enterocolitis reflect a clinical picture of disease, but are not specific, therefore can be additional diagnostic criterion of forecasting inflammatory process.

*Key words:* newborn, necrotizing enterocolitis, immunity

Развитие иммунной системы является генетически запрограммированным процессом, который начинается внутриутробно, но наиболее мощный стимул иммунная система получает после рождения ребенка в результате значительного антигенного воздействия. В первую очередь, в этой роли выступают микроорганизмы, заселяющие кожу, верхние дыхательные пути и желудочно-кишечный тракт [1].

Состояние иммунитета доношенных новорожденных с антенатальным инфицированием и хронической гипоксией характеризуется слабостью первичного иммунного ответа, что служит предпосылкой развития язвенно-некротического энтероколита (ЯНЭК), связанного с вторичным инфицированием [2]. При исследовании содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови новорожденных с данной патологией некоторыми авторами выявлено достоверное повышение уровня IgM и IgA, при этом содержание IgG оставалось в пределах нормы [3-5]. В другом исследовании отмечено увеличение IgM, IgA, IgG [6], причем уровень IgG и IgA был повышен, а IgM достигал значений взрослого человека. У новорожденных, угрожаемых по ЯНЭК, некоторыми авторами найдена гипо-G-иммуноглобулинемия и усиленный синтез собственных IgM и IgA как внутриутробно, так и в первые дни жизни [7].

Цель исследования: изучить особенности клеточного и гуморального иммунитета у новорожденных с язвенно-некротическим энтероколитом.

#### Материалы и методы

В клинике Нижегородской государственной медицинской академии на базе детской городской больницы № 1 с 2006 по 2009 гг. наблюдалось 80 больных с язвенно-некротическим энтероколитом. Мальчиков было 46 (57,5%), девочек – 34 (42,5%). Большинство детей (92%) поступали из роддомов г. Н.Новгорода, доношенными родились 64 (80%) ребенка. Возраст пациентов варьировал от 1 до 12 дней, пик заболевания приходился на 3-е сутки жизни.

При поступлении состояние новорожденных расценивалось как тяжелое, соответствующее ЯНЭК II-III степени. Для подтверждения степени тяжести заболевания, наряду с клинико-лабораторным контролем всем пациентам выполнялась инструментальная диагностика (обзорная рентгенография и ультразвуковая диагностика органов брюшной полости).

Определение показателей клеточного и гуморального иммунитета выполнено 40 (50%) больным с ЯНЭК. Забор материала выполняли в первые дни поступления детей в хирургический стационар с последующим сравнительным анализом на разных сроках лечения. Для идентификации Т-клеток изучали

способность лимфоцитов периферической крови к спонтанному розеткообразованию (РО) с эритроцитами барана (ЭБ) по Bach (1973). В-клетки определяли в реакции РО с эритроцитами мыши (ЭМ) по Gupta et al. (1978). Розетки подсчитывались на мазках, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови исследовали методом простой радикальной иммунодиффузии в агаровом геле по Mancini et al., (1964) с использованием стандартных комплектов моноспецифических антисывороток против человеческих иммуноглобулинов классов G, M, A – («Sevac», ЧССР). При помощи реакции осаждения полиэтиленгликоля с последующим спектрофотометрированием по Davies (1971) определяли количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

В иммунологической лаборатории применяли микроскоп «Биолам – Р-11» на основе масляной иммерсии. Окуляр К –  $\times 7$ , объектив –  $90 \times 1,25$ ;  $90 \times 1,30$ . Осветитель – ОИ-35.

Результаты исследования подвергнуты вариационно – статистической обработке по методике, описанной в руководстве Н.А.Плохинского (1980) с определением средних значений (M), средних квадратических отклонений ( $\sigma$ ) и ошибки средних (m) параметров.

С учетом лечебной тактики все пациенты были разделены на 2 группы: группа I – неоперированные, n=58; группа II – оперированные, n=22.

### Результаты и их обсуждение

У новорожденных защитная функция кожных покровов и слизистых оболочек снижена; для них характерна высокая проницаемость и низкая активность бактерицидных веществ. Недостаточная кислотность желудочной среды и высокая проницаемость кишечной стенки определяют недостаточную сопротивляемость малышей к возбудителям инфекций и токсинам, попавшим с едой и питьем. Ведущее место в микробиологическом статусе новорожденного занимали *S.epidermidis*, *P.aeruginosa*, *E.coli*, *E.faecals*, представители рода *Enterobacter*; последние так же давали обильный рост в посевах из брюшной полости, что учитывалось при санации операционной зоны.

В процессе обследования с помощью ПЦР диагностики у 57 (39%) малышей выявлены внутриутробные инфекции. Цитомегаловирус (ЦМВ) и уреоплазмоз встретились у 28 (55%) больных, микоплазмоз, хламидиоз и токсоплазмоз высевались в 17 (33%) случаях, вирус герпеса отмечен в 6 (12%) исследованиях. В ряде анализов констатировано наличие нескольких возбудителей (сочетание ЦМВ и уреоплазмы).

Послеродовой контакт матери и ребенка «кожа – к – коже» и получение капель молозива крайне важны для развития нормальной флоры у новорожденного. Однако, с учетом тяжести состояния 40 малышей (50%) не прикладывали к груди, 12 (15%) новорожденных прикладывали на 2-е сутки; на 1-е сутки жизни прикладывали 28 (35%) детей. В связи с этим, природ-

ной защитой – грудным вскармливанием, для группы новорожденных с ЯНЭК, состояние которых расценивалось как тяжелое и средней степени тяжести, в полной мере невозможно было воспользоваться.

Недостаточностью фагоцитоза и системы комплемента, как факторов врожденного иммунитета, определялась склонность детей к более тяжелому течению инфекций и развитию осложнений (генерализация, поражение нескольких органов, сепсис). Перенесенная внутриутробная гипоксия и асфиксия, длительность безводного периода более 6 часов (околоплодные воды через 6 часов утрачивают свои бактерицидные свойства), активное использование инвазивных пособий (ИВЛ, венозные доступы, лапароцентез), нарушение правил асептики и антисептики на различных этапах лечения приводили к нарушению формирования иммунитета. Так, поздний гестоз различной степени тяжести был установлен у 48 (60%) матерей новорожденных с ЯНЭК, а безводный промежуток в процессе родов свыше 6 часов зафиксирован у 15 (45,5%) рожениц.

Очень важным для правильного формирования иммунитета у младенцев являлось поддержание здоровья у будущей мамы. Болезни матери инфекциями, передающимися половым путем, соматические заболевания, осложнения беременности, вредные привычки неблагоприятно сказывались на формировании иммунитета у плода и будущего ребенка, приводя к его ослаблению. При анализе историй болезни детей с ЯНЭК выявлено, что вредными привычками до и вовремя беременности (алкоголь, табакокурение) страдали 18 (23%) матерей. Ведущее место среди заболеваний рожениц занимали гинекологические проблемы (23%), в том числе инфекционного генеза и острые респираторно-вирусные инфекции (23%) (рис. 1).

Оценивая весьма широкий диапазон показателей иммунного статуса у пациентов с ЯНЭК, отмечено, что количество Т-лимфоцитов в обеих группах было незначительно снижено, а В-лимфоцитов соответствовало норме.

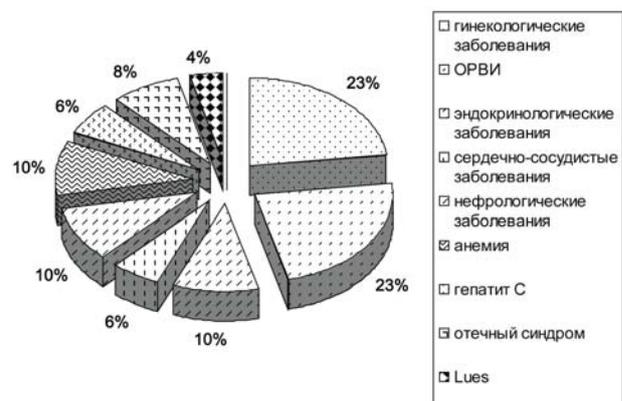


Рис. 1. Заболевания матерей во время беременности.

**Показатели клеточного звена иммунитета у новорожденных с язвенно-некротическим энтероколитом**

Показатели	Группа I <sup>1</sup> (n=28)	Группа II <sup>2</sup> (n=12)	Контрольная группа <sup>3</sup> (n=30)
Т-активные лимфоциты, % то же, 10 <sup>3</sup> /л	53,0±3,1 1,61±0,7 (p<0,05)	47,0±2,4 1,03±0,5 (p<0,05)	28,0±0,5 0,3±0,4
Т-лимфоциты, % то же, 10 <sup>3</sup> /л	55,0±1,9 1,67±0,2 (p<0,05)	55,0±1,9 1,21±0,3 (p<0,05)	56,0±1,5 0,8±0,7
В-лимфоциты, % то же, 10 <sup>3</sup> /л	22,0±3,4 0,67±0,03 (p<0,05)	21,0±3,4 0,46±0,02 (p<0,05)	35,3±2,4 0,24±0,3
ТФУ <sup>4</sup> -лимфоциты, % то же, 10 <sup>3</sup> /л	57,3±3,6 1,6±0,38 (p<0,05)	36,0±2,7 1,79±0,34 (p<0,05)	68,1±3,5 0,55±0,3
ТФЧ <sup>5</sup> -лимфоциты, % то же, 10 <sup>3</sup> /л	4,2±5,1 0,49±0,25 (p<0,05)	21,0±4,2 0,46±0,21 (p<0,05)	29,7±2,4 0,16±0,4
ТФУ/ТФЧ (ИРИ <sup>6</sup> )	14,0±4,8 (p<0,05)	1,7±3,6 (p<0,05)	1,8±3,0

Примечания: группа I<sup>1</sup> – неоперированные, группа II<sup>2</sup> – оперированные дети, контрольная группа<sup>3</sup> – практически здоровые дети. ТФУ<sup>4</sup> – теофиллинустойчивые лимфоциты, ТФЧ<sup>5</sup> – теофиллинчувствительные лимфоциты, ИРИ<sup>6</sup> – иммунорегуляторный индекс.

Различия достоверны по сравнению с контрольной группой.

Отмечено, что количество Т-хелперов (Тх) в группе I находилось на верхней границе нормы, в группе оперированных детей этот показатель так же не был превышен. Резкое снижение Т-супрессоров (Тс) в группе II до 4-6% свидетельствовало за острую фазу воспалительного процесса, что, безусловно, отражало клиническую картину заболевания. На начальных этапах лечения пациентов группы I, увеличение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) – комплексов «антиген-антитело» до 108 ед/мл характеризовало острую стадию процесса и адекватный ответ организма на воспаление. При анализе практически всех иммунограмм переход сниженного процента лимфоцитов крови к повышенному показателю указывал на репаративную фазу заболевания, а увеличение процента лимфоцитов являлось предвестником клинического выздоровления (табл. 1).

При анализе изменения уровней иммуноглобулинов в процессе развития воспалительной реакции отмечено, что действие продуктов воспалительного очага слишком многообразно и зависит от большого числа причин, поэтому установить жесткую закономерность их изменений было трудно.

На начальных стадиях развития ЯНЭК у пациентов обеих групп содержание IgM не превышало норму, тогда как отмечалось стойкое повышение IgA среди оперированных детей и увеличение IgG в группе пациентов, пролеченных без хирургического вмешательства.

Данные изменения указывали на возникновение в организме новорожденных суперинфекции, так как 77% больных антибактериальное лечение назначалось в роддоме. Однако, повышенный иммунорегуляторный индекс (ИРИ) в группе I четко демонстрировал явления активации клеточного звена иммунитета в период воспалительной фазы заболевания, что являлось благоприятным прогностическим признаком (табл. 2).

При подозрении на ЯНЭК пациентам назначали стартовую терапию, включающую: полное парентеральное питание, инфузионную программу, цефалоспорины III поколения (цефотаксим, цефобид, цефтриаксон), аминогликозиды (амикацин), метронидазол в течение 24-48 часов. Для улучшения обменных процессов и ускорения регенерации тканей применяли солкосерил в/в струйно. С учетом бактериологических данных проводили комплексное лечение дисбиоза кишечника (специфические бактериофаги, ферментные и спазмолитические препараты, энтеросорбенты). При наличии высокого титра условно-патогенной флоры выполняли селективную деконтаминацию с помощью антибактериальных (гентамицин) и антимикробных препаратов (эрссефурил). Для восстановления нормофлоры и повышения иммунного статуса назначали пробиотики (Бифидумбактерин, Линекс, Флорин форте) с иммуномодулирующими средствами (КИП – комплексный иммуноглобулиновый препарат и Кипферон суппозитории).

**Показатели гуморального звена иммунитета у новорожденных с язвенно-некротическим энтероколитом**

Показатели	Группа I (n=28)	Группа II (n=12)	Контрольная группа (n=30)
IgA	1,09±0,1 (p<0,05)	0,61±0,32 (p<0,05)	0,58±0,2 г/л
IgM	0,43±0,02 (p<0,05)	0,55±0,03 (p<0,05)	0,43±0,5 г/л
IgG	10,0±0,3 (p<0,05)	6,2±0,4 (p<0,05)	7,0±1,3 г/л
ЦИК	108±4,7 (p<0,05)	36±2,5 (p<0,05)	78,0±1,5 ед/мл

Примечание: различия достоверны по сравнению с контрольной группой.

В процессе наблюдения и лечения проводимая консервативная терапия в 58 (72%) случаях привела к благоприятному исходу заболевания. Отсутствие эффекта от назначенного лечения в течение 48 часов и ухудшение состояния отмечено у 22 (18%) новорожденных, которым в экстренном порядке выполняли операцию. Возраст прооперированных детей варьировал от 2 до 24 суток жизни. После предварительной предоперационной подготовки (инфузионная терапия, антибактериальная профилактика), всем пациентам была выполнена срединная лапаротомия. В 11 (50%) случаях отмечен летальный исход, причиной которого явилось позднее поступление детей с ЯНЭК в хирургический стационар.

### Выводы

1. На формирование иммунитета негативное воздействие оказывают вредные привычки родителей,

острые и хронические заболевания матери, внутриутробное инфицирование плода, хроническая гипоксия, осложнения во время родов.

2. Совокупность показателей клеточного и гуморального иммунитета достаточно полно отражает динамику развития ЯНЭК, но не является специфичным для данного заболевания.

3. Назначение иммуномодуляторов одновременно с антибактериальными, ферментными и пробиотическими препаратами снижает колонизацию слизистой оболочки кишечника патогенными микроорганизмами и ускоряет восстановление защитных сил организма.

4. Комплексное сопоставление клинической картины с лабораторными и инструментальными данными позволит своевременно выбрать лечебную тактику и улучшить результаты лечения новорожденных с язвенно-некротическим энтероколитом.

### Список литературы

1. Нароган М.Е. Защита беззащитных. Особенности иммунитета новорожденных. «9 месяцев» 2009; 2: 21-23.
2. Редько И.И. Клинико-метаболические особенности течения хламидийной инфекции у новорожденных детей. Российский вестник перинатологии и педиатрии 1998; 3 – 15 .
3. Струнина И.Г. Инфекционно-воспалительные заболевания матери как фактор риска перинатальной патологии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 1993; 24.
4. Непокучицкая Н.В., Долгина Е.Н., Самсыгина Г.А. Иммунологическая характеристика детей первых трех месяцев жизни с внутриутробной и постнатальной инфекцией. Педиатрия 1994; 7: 23-26.
5. Самсыгина Г.А., Буслаева Г.Н., Непокучицкая Н.В. Гематологическая и иммунологическая характеристика внутриутробных инфекций у детей. Педиатрия 1997; 4: 59-62.
6. Непокучицкая Н.В. Характеристика некоторых показателей иммунного реагирования у детей с внутриутробной и постнатальной инфекцией: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М 1995; 24.
7. Левицкая Е.Б. Критерии прогнозирования внутриутробных и постнатальных инфекций у новорожденных детей матерей с инфекционной патологией: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киев 1985; 24.

### Информация об авторах

1. Карпова Ирина Юрьевна – к.м.н., ассистент кафедры детской хирургии Нижегородской государственной медицинской академии; e-mail: ikarпова73@mail.ru
2. Паршиков Вячеслав Владимирович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой детской хирургии Нижегородской государственной медицинской академии; e-mail: ped-surg@gma.nnov.ru