

Особенности функционирования иммунной системы у детей с врожденными расщелинами губы и неба на этапах хирургического лечения

М.Н. МИТРОПАНОВА, к.м.н., доцент, зав. кафедрой
Кафедра детской стоматологии, ортодонтии и челюстно-лицевой хирургии
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ

Features of immunological system functioning in children with cleft lip and palate during surgical stage of treatment

M.N. MITROPANOVA

Резюме

Наиболее частым внутриутробно развивающимся пороком являются пороки челюстно-лицевой области. Врожденная расщелина губы и неба (ВРГН) — анатомический дефект, который влияет на одну из важных защитных функций иммунной системы. Иммунная система очень чутко реагирует на поломки в формировании гомеостаза плода. Дети с расщелиной губы и неба относятся к категории часто болеющих детей (ЧБД), так как начинают болеть респираторными заболеваниями практически с первых месяцев жизни и эти заболевания протекают волнообразно.

В статье представлены данные функционирования иммунной системы детей с ВРГН, находившихся на разных этапах хирургического лечения, для обоснования необходимости включения иммуностимулирующей терапии в комплекс реабилитационных мероприятий.

Ключевые слова: врожденная расщелина губы и неба, хирургическая реабилитация, активно фагоцитирующие нейтрофилы, клеточный и гуморальный иммунитет.

Abstract

The most common prenatal defects are maxilla-facial abnormalities. Cleft lip and palate (CLP) are anatomical defects that affect one of the most important function of the immune system. Fetal immune system responds very sensitively to failures in homeostasis formation. Children with CLP fall ill most frequently because they suffer from respiratory diseases since the first months of their lives and the diseases are usually wavelike.

These data make it possible to prove that immunotropic therapy should be included in the complex treatment of such children.

Key words: cleft lip and palate, frequently ill children, surgical rehabilitation, actively phagocytic neutrophils, cellular and humoral immunity.

Введение

Наиболее частым внутриутробно развивающимся пороком являются пороки челюстно-лицевой области. В связи с высокой частотой, тяжестью анатомических и функциональных нарушений, трудностью социальной адаптации пациентов, экономическими аспектами эти пороки являются одной из важнейших проблем медицины. Клинико-генеалогический анализ семейного материала позволил обосновать

гипотезу генетической гетерогенности несиндромальных форм врожденных расщелин верхней губы и неба (ВРГН), где около 38% случаев относятся к категории «семейных», а 62% — к «спорадическим» [1, 14]. ВРГН — анатомический дефект, который влияет на одну из важных защитных функций иммунной системы. Иммунная система очень чутко реагирует на поломки в формировании гомеостаза плода» [11, 15]. Дети с расщелиной губы и неба

относятся к категории часто болеющих детей (ЧБД), так как начинают болеть респираторными заболеваниями практически с первых месяцев жизни и эти заболевания протекают волнообразно до периода операции и нередко в послеоперационном периоде [2]. Известно, что развивающиеся частые острые респираторные инфекции затрудняют своевременность оперативного лечения данной категории пациентов, увеличивают медикаментозную на-

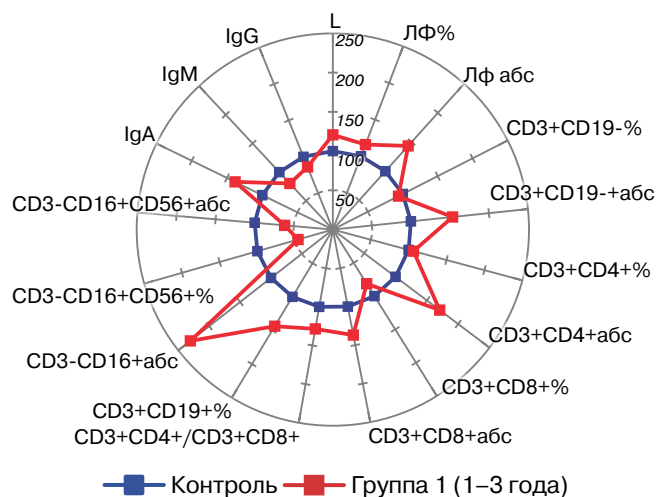


Рис. 1. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у детей 1–3 лет с врожденной расщелиной губы и неба в процентах от контрольной группы

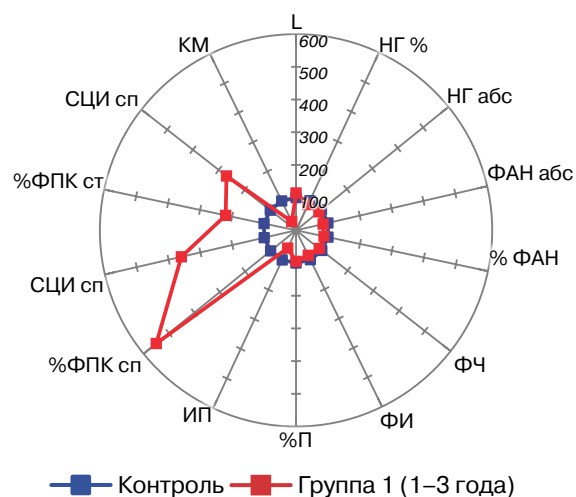


Рис. 2. Показатели фагоцитарной и микробицидной активности нейтрофилов у детей 1–3 лет с врожденной расщелиной губы и неба в процентах от контрольной группы

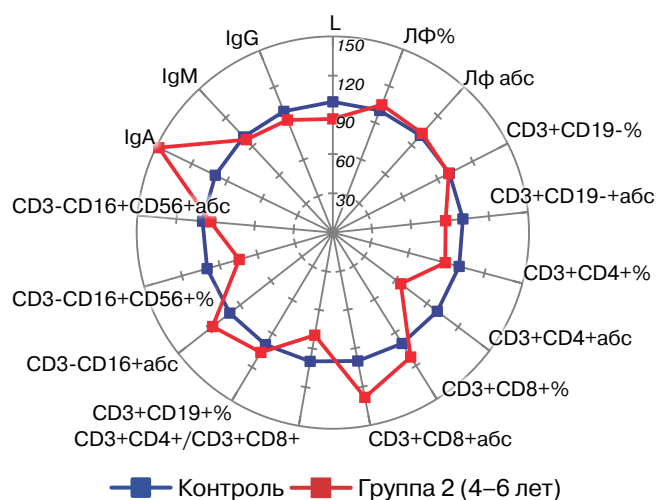


Рис. 3. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у детей 4–6 лет с ВРГН в процентах от контрольной группы

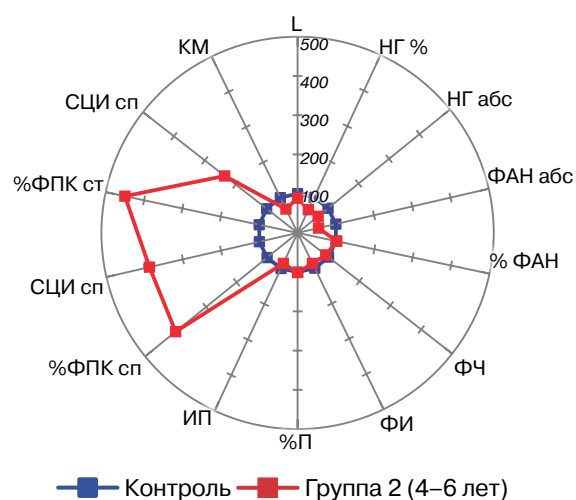


Рис. 4. Показатели фагоцитарной и микробицидной активности нейтрофилов у детей 4–6 лет с ВРГН в процентах от контрольной группы

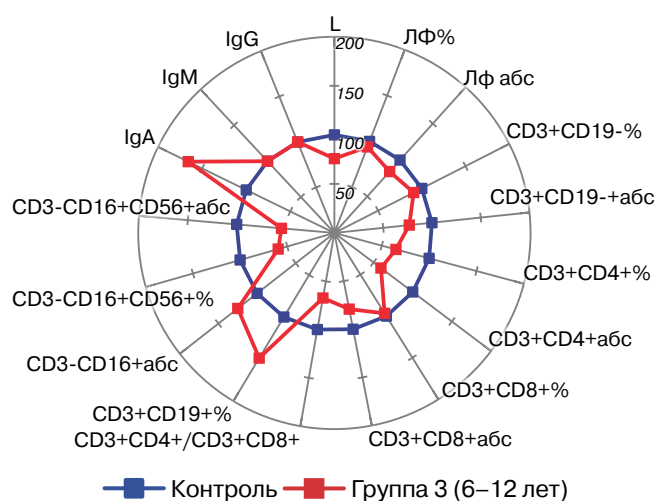


Рис. 5. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у детей 6–12 лет с ВРГН в процентах от контрольной группы

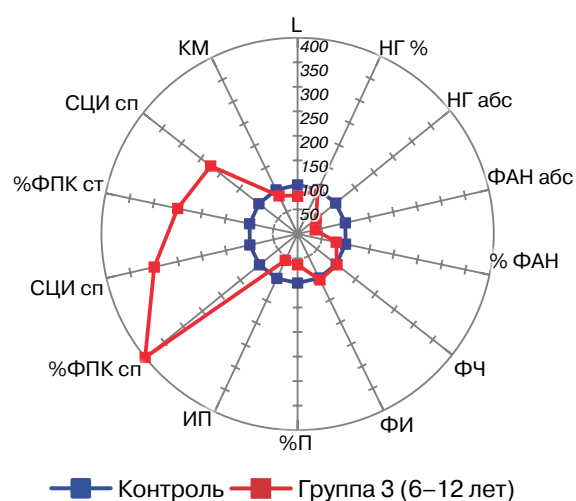


Рис. 6. Показатели фагоцитарной и микробицидной активности нейтрофилов у детей 6–12 лет с ВРГН в процентах от контрольной группы

грузку, что сопровождается развитием иммуносупрессии [3, 6, 7, 13]. Заболеваемость детей острыми респираторными инфекциями (ОРИ) и сложности, возникающие при проведении реабилитации таких детей, создают необходимость в поиске новых диагностических подходов и оптимизации лечебной тактики. Зачастую часто и длительно болеющие дети, «трудно поддающиеся традиционной терапии», являются иммуно-компрометированными [11, 14]. Представляется важным своевременное тестирование состояния иммунной и интерфероновой систем детей с повторными ОРИ, в том числе с сопутствующей хронической лор-патологией, заболеваниями желудочно-кишечного тракта и выявление иммунодефицита и/или интерферондефицита [10]. Нередко безупречно выполненная операция может иметь ранние и отдаленные осложнения в результате размножения патогенной микрофлоры или развития повторных респираторных заболеваний в послеоперационном периоде, несостоятельности швов, воспалительного процесса в послеоперационной области, отторжения аутоотрансплантата, что приводит к необходимости повторных оперативных вмешательств [4, 11]. Имеется огромный опыт лечения пациентов с ВРГН и постоянное совершенствование методик оперативного вмешательства и тактики ведения пациентов. Тем не менее, возникновение послеоперационных осложнений, приводящих к неудовлетворительному конечному результату, требуют дополнения, изменения алгоритма диагностики, лечения и профилактики осложнений [5, 9].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение особенностей функционирования иммунной системы детей с ВРГН, находившихся на разных этапах хирургического лечения, для обоснования необходимости включения иммуномодулирующей терапии в комплекс реабилитационных мероприятий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования явилась периферическая кровь 100 детей с ВРГН, находившихся на разных этапах хирургического лечения в отделении челюстно-лицевой хирургии детской Краевой клинической больницы г. Краснодара (ЧЛХ

ДККБ). Дети были рандомизированы на четыре клинические группы, отличающиеся этапом хирургической реабилитации и возрастом пациентов:

1 группа — 30 детей в возрасте от 1 до 3 лет (после хейлопластики, до велоластики и/или уранопластики);

2 группа — 30 детей в возрасте от 4 до 6 лет (с непроведенным своевременно хирургическим лечением — после хейлопластики, велоластики на этапах уранопластики);

3 группа — 20 детей в возрасте от 6 до 12 лет (дети на этапах своевременного хирургического лечения (коррекция губы после хейлопластики, уранопластика), а также после повторной уранопластики, закрытие остаточного дефекта твердого неба, аутоостеопластики, до поздней аутоостеопластики).

Группы контроля составили условно-здоровые дети соответствующих возрастных диапазонов (по 20 человек, соответственно).

Тестировали состояние Т-клеточного (CD3+CD19-, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD4+/CD8+), В-клеточного (CD3-CD19+), гуморального (сывороточные IgA, IgG, IgM) звеньев, естественных киллерных клеток (ЕКК) — (CD3-CD16+CD56+) по сравнению с группой контроля. Исследование фагоцитарной функции НГ проводили в соответствии с методическими рекомендациями [8], тестировали содержание активно-фагоцитирующих нейтрофилов — относительное (%ФАН) и абсолютное количество (ФАН абс.); для характеристики объема захваченного бактериального материала (*Staphylococcus aureus*, штамм 209) определяли фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ); для оценки киллинговой активности и уровня переваривания определялся процент переваривания (%П), индекс переваривания (ИП). Активность микробицидных систем НГ, с оценкой их способности к реализации цитотоксического и цитолитического потенциала, тестировалась с использованием функциональных нагрузочных тестов в системе *in vitro*. В зависимости от уровня активности NADPH-оксидазы в спонтанном и стимулированном NBT-тесте (индукция *Staph. aureus*, штамм 209) определялся средний цитохимический индекс — СЦИ, рассчитывался коэффициент мобилизации — КМ: %ФПКст(NBTст)/%ФПКсп(NBTсп.).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel, StatPlus 2009 с применением непараметрических тестов Вилкоксона и Манна-Уитни. Результаты представляли в виде медианы (верхний и нижний квартиль) (Me[Q1;Q3]). Достоверность различия определяли при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя состояние клеточного и гуморального иммунитета у детей с врожденной расщелиной губы и неба, находившихся на разных этапах хирургического лечения, установлен ряд особенностей. Так, у детей группы 1 на фоне увеличения общего количества лейкоцитов до 7,0 [6,35; 8,1] против 5,8 [5,39; 5,96] в контроле отмечено увеличение абсолютного количества лимфоцитов в 1,43 раза (4,16 [3,81; 4,5] против 2,9 [2,5; 3,21] в контроле). Результаты анализа иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов показали: достоверное повышение абсолютного количества CD3+CD19- лимфоцитов, указывающих на количество зрелых Т-лимфоцитов и абсолютного содержания CD3+CD4+ лимфоцитов, идентифицирующих хелперно-индукторную субпопуляцию Т-лимфоцитов. При этом абсолютное количество CD3+CD8+ лимфоцитов, отражающих цитотоксическую субпопуляцию Т-лимфоцитов, достоверно не отличалось от показателей здоровых детей (1,0[0,8;1,09] против 0,73[0,61;0,8] в контроле), выявлялась лишь тенденция к повышению этих показателей. Кроме того, выявлен существенный дефицит относительного (в 2,2 раза) и абсолютного (в 1,6 раз) количества CD3-CD16+CD56+ естественных киллерных лимфоцитов (ЕКК), отвечающих за цитотоксические клеточные реакции (рис. 1).

Абсолютное количество CD3-CD19+ — В-лимфоцитов увеличивалось в 2,3 раза, но при этом изменения в гуморальном иммунитете проявлялись дисгаммаглобулинемией в виде увеличения уровня сывороточного IgA в 1,4 раза и снижения уровней сывороточных IgM и IgG (рис. 1).

Анализ результатов исследования фагоцитарной функции у детей 1 группы, прежде всего, показал более низкий уровень лейкоцитов периферической

крови и абсолютного содержания циркулирующих нейтрофильных гранулоцитов (НГ абс) — 28% [27;33]; $1,89 \times 10^9$ [1,74;2,15] против 40% [32;42]; $2,43 \times 10^9$ [1,86;2,48] в контроле, а также абсолютного содержания активных фагоцитирующих НГ (%ФАН, ФАН абс) среди них относительно таковых у здоровых детей (рис. 2).

При этом и показатели поглощающей способности НГ (ФЧ, ФИ), и показатели, характеризующие переваривающую способность НГ, были на уровне контрольных значений. В то же время наблюдалась напряженность NADPH — оксидантной микробицидной активности НГ в спонтанном NBT-тесте (СЦИсп — 0,32[0,25;0,4], % ФПКсп-11[8;13] против СЦИсп — 0,09[0,05; 0,12], % ФПКсп-2 [1; 3] в контроле). При дополнительной антигенной нагрузке отмечался срыв резервных возможностей НГ, что отразилось в снижении КМ-0,88 [0,88;1,33] против 2,5 [1,5; 3,5] у здоровых детей соответствующей возрастной группы.

Выявленные изменения у детей этой группы характеризуют с одной стороны незрелость адаптивного иммунитета, характерную для этого возраста, с другой стороны дефектность врожденного иммунитета и, как следствие, формирование неадекватного иммунного ответа, связанного с постоянной вирусной нагрузкой (персистенция и репликация респираторных вирусов), несмотря на отсутствие периода острых клинических проявлений заболеваний. Данный возрастной период характеризуется частыми и повторными заболеваниями респираторного тракта и лор-органов. В организме ребенка продолжается активная выработка IgA в ответ на действие инфекционных факторов, в то же время не отмечается адекватная выработка иммуноглобулинов класса М и G, при этом могут наблюдаться аллергические пищевые реакции. При невыработке антител класса G ребенок часто болевает ОРВИ повторно, зачастую сразу же после клинического выздоровления. Это говорит о функциональной незрелости иммунной системы ребенка и неподготовленности ее к адекватной противoinфекционной защите, что может приводить к различным осложнениям в послеоперационном периоде.

Во 2-й группе характер субпопуляционного состава лимфоцитов

отличался от показателей соответствующей контрольной группы снижением абсолютного содержания CD3+CD4+лимфоцитов ($p > 0,05$), при этом количество цитотоксических CD3+CD8+лимфоцитов было повышено в как в относительном (29,75% [28,2; 34,88] против 26,5% [25,5; 29,5] в контроле, $p > 0,05$) так и абсолютном содержании ($0,86 \times 10^9$ [0,7;1,06] против $0,67 \times 10^9$ [0,57; 0,86] в контроле, $p > 0,05$). Данные изменения приводят к нарушению соотношения лимфоцитов с хелперной и цитотоксической активностью, что приводит к снижению ИРИ в 1,4 раза до 1,19 [0,96; 1,33] против 1,5 [1,36; 2,02] в контроле ($p < 0,05$) (рис. 3).

В данной группе детей абсолютное и относительное содержание CD3-CD16+CD56+-лимфоцитов (ЕКК) имеет тенденцию незначительного снижения и практически не отличается от контрольных значений 11,1% [8,5;16,03] против 14,9% [8,8;16,35] в контроле ($p > 0,05$). Со стороны гуморального иммунного ответа выявлено увеличение сывороточного IgA и неизменные по отношению к контролю уровни IgM и IgG на фоне отсутствия количественных изменений CD3-CD19+лимфоцитов ($p > 0,05$) (рис. 3). Данные изменения свидетельствуют о неадекватном ответе клеточного и гуморального иммунитета на вирусную и бактериальную нагрузку, характерную для исследуемой группы, и проявляющуюся частыми повторными осложненными и неосложненными ОРВИ.

При анализе количественных и функциональных показателей фагоцитарной активности НГ у детей 2-й группы показано, что на фоне снижения как процентного, так и абсолютного количества НГ в периферической крови отмечается снижение абсолютного количества активно работающих НГ (ФАН абс.) по сравнению с показателями контрольной группы, снижение ФЧ и ФИ ($p_{1,2} > 0,05$) и активация спонтанных NADPH-оксидаз с низким ответом на дополнительную антигенную нагрузку (КМ-1,13 [1;1,25] против 1,67 [1,55; 2] в контроле). При этом киллинговая и переваривающая способности НГ были в пределах контрольных значений (рис. 4).

У 3-й группы детей отмечалось снижение абсолютного количества лимфоцитов, снижение общего количества CD3+лимфоцитов

как в процентном (в 1,5 раза) так и в абсолютном (в 1,7 раза) значениях, за счет уменьшения содержания CD3+CD4+лимфоцитов до 30,5% [29,7;37,98] против 46,95% [39,65; 48,31], при отсутствии достоверных изменений количества CD3+CD8+-лимфоцитов по отношению к контролю. Интересно отметить, что у детей данной группы отмечалось примерно равное количественное соотношение Т-клеток с хелперной и цитотоксической функцией, что подтвердилось снижением ИРИ до 0,99 [0,84; 1,05] против 1,47 [1,36;1,52] в контроле. Имеется количественный дефицит ЕКК выявленный как в относительных (в 1,5 раза), так и в абсолютных (в 1,85 раза) показателях (рис. 5).

У детей данной группы отмечается повышение уровня CD3-CD19+-В-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой данного возраста. Однако прослеживается напряженность гуморального иммунитета в виде увеличения сывороточного IgA, а уровни IgM и IgG остаются неизменными по отношению к контролю, что свидетельствует о несостоятельности антибактериального иммунитета (рис. 5).

При оценке фагоцитарной активности у детей 3-й группы на фоне снижения абсолютного количества НГ до 3,11 [2,67;3,17] против 4,3 [4,27; 4,64] в контроле, выявлено снижение и доли среди них активно фагоцитирующих НГ, что особенно показательно при оценке ФАН абс. (рис. 6). Процессы захвата (ФИ, ФЧ) и переваривания (%П, ИП) не отличаются от контрольных значений. Выявлено повышение спонтанной активности NADPH-оксидаз как по %ФПК-4 [3;5] против 1 [1; 1,75] ($p < 0,05$), так и по СЦИ-0,15 [0,13; 0,18] против 0,05 [0,04; 0,11] ($p < 0,05$) в контроле. При дополнительной антигенной нагрузке в NBT-тесте сохранялся резервный микробицидный потенциал НГ, КМ-1,34 [1,26; 1,42] (рис. 6).

В 3-й группе детей присутствует неэффективный ответ НГ на постоянную микробную нагрузку, преимущественно бактериальную, так как выявленный количественный дефицит НГ, в том числе активно фагоцитирующих НГ, недостаточен для элиминации патогена. Данные изменения можно оценить как неадекватную фагоцитарную реакцию НГ.

Выводы

1. Полученные результаты показателей иммунной системы у детей с ВРГН, находившихся на этапах хирургического лечения, свидетельствуют о наличии дефектов клеточного (особенно выраженного в дефиците клеток с цитотоксической активностью — CD3+CD8+ лимфоцитов и особенно ЕКК), гуморального (высокий уровень IgA и отсутствие адекватной продукции IgM и IgG иммуноглобулинов), нарушения фагоцитарной и микробицидной функции НГ, проявляющихся дисбалансом поглотительной и киллинговой активности с нарушением микробицидной активности.

2. Выявленные дисфункции прослеживаются во всех исследуемых группах, с разной степенью выраженности дефектов и, возможно, в своем большинстве носят врожденный характер.

3. Установленные дефекты функционирования иммунной системы (врожденные или приобретенные) показывают необходимость включения иммуномодулирующей терапии на различных этапах хирургического лечения с целью увеличения эффективности реабилитации пациентов с расщелинами губы и неба, заключающейся в профилактике послеоперационных осложнений и повторных респираторных инфекций, возможности реставрации нарушений в иммунной системе.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дусмухамедов М. З. Клинико-лабораторная оценка состояния здоровья детей с врожденной расщелиной неба // Актуальные вопросы экспериментальной, клинической и профилактической стоматологии. Сборник научных трудов Волгоградского государственного медицинского университета. — Волгоград: ООО «Бланк», 2008. — 346 с.

Dusmuhamedov M. Z. Kliniko-laboratornaja ocenka sostojanija zdorov'ja detej s vrozhdennoj rassshhelinoj neba // Aktual'nye voprosy jeksperimental'noj, klinicheskoj i profilakticheskoj stomatologii. Sbornik nauchnyh trudov Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. — Volgograd: ООО «Blank», 2008. — 346 s.

ogo universiteta. — Volgograd: ООО «Blank», 2008. — 346 s.

2. Иноятв А. К., Азимов М. И., Мусаходжаева Д. А. Состояние иммунной системы женщины, родившей младенцев с расщелиной губы и неба // Цитокины и воспаление. 2011. №4.

Inojatov A. K., Azimov M. I., Musahodzhaeva D. A. Costojanie immunnoj sistemy zhenshin, rodivshih mladencev s rassshelinoj guby i njoba // Citokiny i vospalenie. 2011. №4.

3. Митропанова М. Н., Ханферян Р. А., Шульженко В. И. Состояние иммунитета у детей с врожденными пороками лица // Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей. Сборник материалов II Всероссийской научно-практической конференции. — М., 2006. — С. 122–124.

Mitropanova M. N., Hanferjan R. A. Shul'zhenko V. I. Sostojanie immuniteta u detej s vrozhdennymi porokami lica // Vrozhdennaja i nasledstvennaja patologija golovy, lica i shei u detej. Sbornik materialov II Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii. — M., 2006. — S. 122–124.

4. Сутулов В. В. Оказание специализированной помощи детям с врожденной расщелиной губы и неба в современных условиях развития здравоохранения: Автореф. дис. ... канд. мед. наук, 2006.

Sutulov V. V. Okazanie specializirovannoj pomoshhi detjam s vrozhdennoj rassshhelinoj guby i neba v sovremennyh uslovijah razvitiya zdavoohranenija: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk, 2006.

5. Шульженко В. И., Митропанова М. Н., Чечула Н. И. Вариант изучения и анализа протоколов реабилитации детей с несращением губы и неба, применяемых в мире // Кубанский научный медицинский вестник Краснодар. 2011. №2 (125). С. 196–199.

Shul'zhenko V. I., Mitropanova M. N., Chenchula N. I. Variant izucheniya i analiza protokolov reabilitacii detej s nesrashheniem guby i neba, primenjaemyh v mire. // Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik Krasnodar. 2011. №2 (125). S. 196–199.

6. Самсыгина Г. А. Часто болеющие дети: проблемы патогенеза, диагностики, терапии // Педиатрия. 2005. №84 (1). С. 66–73.

Samsygina G. A. Chasto bolejušie deti: problemy patogeneza, diagnostiki, terapii // Pediatrija. 2005. №84 (1). S. 66–73.

7. Замахина Е. В., Фомина В. Л., Кладова О. В. и др. Клинико-патогенетическое значение персистенции респираторных вирусов у часто болеющих ОРВИ детей // Педиатрия. 2009. №87 (2). С. 42–47.

Zamahina E. V., Fomina V. L., Kladova O. V. i dr. Kliniko-patogeneticheskoe znachenie persistencii respiratornyh virusov u chasto bole-

jushhih ORI detej // Pediatrija, 2009. №87 (2). S. 42–47.

8. Нестерова И. В. Иммунореабилитация детей со вторичными иммунодефицитными состояниями: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1992.

Nesterova I. V. Immunoreabilitacija detej so vtorichnymi immunodeficitnymi sostojanijami: Avtoref. dis. ... d-ra med. nauk. — M., 1992.

9. Исаков Л. О. Комплексная реабилитация детей с врожденными расщелинами верхней губы, неба и профилактика их развития в республике Саха (Якутия): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Иркутск, 2009.

Isakov L. O. Kompleksnaja reabilitacija detej s vrozhdennymi rassshelinami verhnej guby, neba i profilaktika ih razvitiya v respublike Saha (Jakutija): Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. — Irkutsk, 2009.

10. Nesterova I. V., Kovaleva S. V., Kolesnikova N. V., Kleshchenko E. I., Shinkareva O. ., Chudilova G. A., Lomtadze L. V., Kokova L. N. Optimization of interferon-and immunotherapy in immunocompromised children with associated viral infections // Allergy, asthma & immunopharmacology: from basic science to clinical management. — Medimond International Proceedings, 2013. P.101–104.

11. Nesterova I., Klehtshenko E., Alekseeva O., Sepiashvili R. Y. Interferons and viruses: defense and attack. Interferon and immunotherapy in counter-defense against recurrent and latent viral and viral-bacterial infections // Allergy, asthma & immunology: from genes to clinical application, Monduzzeditore Medimond International Proceedings. 2011. P. 237–242.

12. Koenders M., Lubberts E., Oppers-Walgreen B. e.a. Blocking of IL17 during reactivation of experimental arthritis prevents joint inflammation and bone erosion by decreasing RANKL and IL-1 // Am. J. Pathol. 2005. Vol. 167. P. 141–149.

13. Marcus R., Feldman D., Nelson D. et al. Fundamentals of osteoporosis. 3rd ed., Vol. 1. — Elsevier, San Diego, 2008. — P. 1941.

14. Marie P. J. Osteoblasts and bone formation / Advances in organ biology: molecular and cellular biology of bone. — Stamford, CT (USA): JAI Press, 1999 — №5B. — P. 401–427.

15. Seibel M. J., Robins S. P., Bilezikian J. P. Dynamics of bone and cartilage metabolism. 2nd ed. — Elsevier, San Diego, 2006. — P. 919.

Поступила 11.04.2017

Координаты для связи с автором:
350063, г. Краснодар,
ул. Митрофана Седина, д. 4

Информацию об издательстве «Поли Медиа Пресс»
вы можете получить на сайте

www.dentoday.ru