

ЭКСПРЕССИЯ CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺HLA-DR⁺, CD14⁺CD11b⁺ РЕЦЕПТОРОВ И УРОВЕНЬ sIgA, У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ, С *K. PNEUMONIAE*

**Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Устюжанин А.В., Маханёк А.А.,
Кадочникова П.А., Абакарова Д.А.**

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества»
Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Резюме. *K. pneumoniae* является одним из лидирующих микроорганизмов, вызывающих госпитальную инфекцию среди недоношенных новорожденных. Неэффективность иммунной защиты, связанной с морфофункциональной незрелостью детей, рожденных преждевременно, длительность госпитализации и инвазивные процедуры создают предпосылки для реализации инфекционного процесса в условиях стационара. Вопрос о причинах развития инфекции, этиологический агент которых колонизирует кишечник, остается открытым. Цель исследования: оценить экспрессию рецепторов CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺HLA-DR⁺, CD14⁺CD11b⁺ на моноцитах крови и уровень sIgA в копрофильтрах у недоношенных детей, при колонизации кишечника *K. pneumoniae* с различным генетическим профилем. Обследовано 11 детей с геном *uge* (1-я группа), 20 новорожденных с генами *uge* + *fim* (2-я группа) и 12 детей с комбинацией генов *kfu* + *uge* + *fim*. Микробиологическое исследование фекалий, включало идентификацию выделенных микроорганизмов, определение их антибиотикочувствительности. Детекция генов *uge*, *fim* и *kfu* в штаммах *K. pneumoniae* проводилась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Методом проточной цитометрии определяли процентное и абсолютное количество моноцитов с оценкой уровня экспрессии рецепторов активации. Гестационный возраст у недоношенных детей с *K. pneumoniae* не отличался, антропометрические показатели были сопоставимы. Установлено, что дети, с идентификацией гена *fim* в сочетании с другими генами чаще всего выписывались домой с *K. pneumoniae*, чем с изолированным геном *uge*. В этих же группах детей, регистрировалось снижение уровня экспрессии рецепторов CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺CD11b⁺, CD14⁺HLA-DR⁺, как при рождении, так и по достижении постконцептуального возраста 37-40 недель и низкое содержание sIgA в копрофильтрах на протяжении 24 суток жизни. Таким образом, снижение экспрессии рецепторов CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺CD282⁺ и CD14⁺HLA-DR⁺ моноцитами крови и недостаточность продук-

Адрес для переписки:

Ремизова Ирина Ивановна
ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт
охраны материнства и младенчества» Министерства
здравоохранения РФ
620028, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, 1.
Тел.: 8 (982) 627-95-36.
E-mail: RemizovaII@yandex.ru

Address for correspondence:

Irina I. Remizova
Ural Research Institute for Maternal and Child Care
1 Repin St
Yekaterinburg
620028 Russian Federation
Phone: +7 (982) 627-95-36.
E-mail: RemizovaII@yandex.ru

Образец цитирования:

Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, А.В. Устюжанин,
А.А. Маханёк, П.А. Кадочникова, Д.А. Абакарова
«Экспрессия CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺,
CD14⁺HLA-DR⁺, CD14⁺CD11b⁺ рецепторов и уровень
sIgA, у недоношенных детей, с *K. pneumoniae*»
// Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 5.
С. 983-992. doi: 10.15789/1563-0625-EOC-16944

© Чистякова Г.Н. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

G.N. Chistyakova, I.I. Remizova, A.V. Ustyuzhanin,
A.A. Makhanyok, P.A. Kadochnikova, D.A. Abakarova
“Expression of CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺,
CD14⁺HLA-DR⁺, CD14⁺CD11b⁺ receptors and sIgA level in
premature infants with *K. pneumoniae*”, Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 5,
pp. 983-992.
doi: 10.15789/1563-0625-EOC-16944

© Chistyakova G.N. et al., 2024

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-EOC-16944

ции sIgA в толстом кишечнике обуславливают продолжительный период колонизации штаммов *K. pneumoniae* с наличием гена *fim* в комбинации с другими генами (от 15 до 180 суток), а также возможность реализации клебсилезной инфекции в последующие периоды жизни ребенка. Значительно чаще дети с комбинацией генов *uge* + *fim* и *kfu* + *uge* + *fim* выписывались из стационара с диагнозом «анемия», только в этих группах детей регистрировалось развитие бронхо-легочной дисплазии.

Ключевые слова: недоношенные новорожденные, структура заболеваемости, гены вирулентности *K. pneumoniae*, колонизация кишечника, функциональная активность моноцитов, sIgA

EXPRESSION OF CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺HLA-DR⁺, CD14⁺CD11b⁺ RECEPTORS AND sIgA LEVEL IN PREMATURE INFANTS WITH *K. PNEUMONIAE*

Chistyakova G.N., Remizova I.I., Ustyuzhanin A.V., Makhanyok A.A., Kadochnikova P.A., Abakarova D.A.

Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. *K. pneumoniae* is one of the leading microorganisms causing nosocomial infections among premature newborns. The ineffectiveness of immune defense, morphofunctional immaturity, length of hospitalization and invasive procedures create the prerequisites for the implementation of the infectious process in a hospital setting. The question of the reasons for the development of infection, the etiological agent of which colonizes the intestines, remains open. Purpose of the study: to evaluate the expression of CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺HLA-DR⁺, and CD14⁺CD11b⁺ receptors on blood monocytes and the level of sIgA in coprofiltrates in premature infants with intestinal colonization by *K. pneumoniae* with different genetic profiles. We examined 11 children with the *uge* gene (group 1), 20 newborns with the *uge* + *fim* genes (group 2), and 12 children with the *kfu* + *uge* + *fim* genes. Microbiological examination of feces included identification and antibiotic sensitivity of microorganisms. Detection of the *uge*, *fim* and *kfu* genes in *K. pneumoniae* strains was carried out by PCR. The expression level of monocyte activation markers was determined by flow cytometry. Gestational age and anthropometric parameters did not differ between newborns. Children identified with the *fim* gene in combination with other genes were more often discharged home with *K. pneumoniae* than with the *uge* gene. In these children, a decrease in the level of expression of CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺CD11b⁺, CD14⁺HLA-DR⁺ receptors at birth and upon reaching postconceptional age, and a low sIgA content in coprofiltrates during 24 days of life were recorded. Thus, a decrease in the expression of CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺CD282⁺ and CD14⁺HLA-DR⁺ receptors by blood monocytes and insufficiency of sIgA production in the large intestine determine a long period of colonization of *K. pneumoniae* strains with the presence of the *fim* gene in combination with other genes (from 15 to 180 days), as well as the possibility of Klebsiella infection occurring in subsequent periods of the child's life. Much more often, children with the combination of genes *uge* + *fim* and *kfu* + *uge* + *fim* were discharged from the hospital with a diagnosis of anemia; only in these groups of children was the development of bronchopulmonary dysplasia recorded.

Keywords: premature newborns, morbidity structure, *K. pneumoniae* virulence genes, intestinal colonization, functional activity of monocytes, sIgA

Введение

В неонатологической службе осложнения инфекционного генеза у новорожденных является актуальной проблемой системы здравоохранения стран всего мира.

В неонатальном периоде формируется микробиота кишечного биотопа новорожденных детей, которая в результате динамических изменений

из-за воздействия факторов внутрибольничных среды может быть представлена не только такими комменсальными бактериями как *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., с выраженными антагонистическими свойствами, но и условно — патогенными микроорганизмами [5]. Типичным примером данной группы бактерий являются энтеробактерии, колонизация кишечника кото-

рыми ассоциирована с высоким развития генерализованной инфекции из-за транслокации через морфо-функционально не зрелой кишечной стенки и развития инфекционно-токсического шока, основным фактором патогенности которого является эндотоксин, компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий.

Klebsiella pneumoniae как представитель семейства *Enterobacteriaceae* является одним из лидирующих микроорганизмов, вызывающих госпитальную инфекцию среди детей, рожденных преждевременно. Широкое распространение во внутрибольничной среде штаммов с устойчивостью к нескольким группам антибактериальных препаратов, появление гипервирулентных изолятов с высокими инвазивными способностями, подтверждает актуальность изучения указанного микроорганизма [8].

В патогенезе инфекции, вызванной штаммами *K. pneumoniae*, следует отметить наличие различных генетических детерминант. Согласно литературным данным, среди обширного спектра факторов патогенности одним из распространенных является липополисахарид (ЛПС), который участвует в стабилизации внешней мембраны, ингибирует систему комплемента макроорганизма. Ген *uge* отвечает за участие в синтезе ЛПС (кодирует фермент уридин-дифосфат-галактуронат-4-эмпиразу). При лизисе бактериальной клеточной стенки происходит высвобождение эндотоксина, поступающий в системный кровоток и обуславливающий развитие инфекционно-токсического шока [11]. Органеллами прикрепления к слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта *K. pneumoniae* использует пили, что обеспечивает колонизацию микроорганизма. Выделяют 1-й (кодируется геном *fim*) и 3-й (кодируется генным кластером *mrk*) типы фимбрий. Для активного размножения, жизнедеятельности и метаболизма *K. pneumoniae* поглощает трехвалентное железо из окружающей среды. Сидерофоры (энтеробактин, сальмохелин, аэробактин, иерсиниобактин), как еще один фактор вирулентности, абсорбируют ионы железа и обладают большей способностью к его связыванию, чем собственные белки хозяина [9]. Ключевая роль в системе обеспечения связывания и поглощения трехвалентного железа, отводится гену *kfu* [1].

По литературным данным, некоторые исследователи считают, что при выявлении *K. pneumoniae* в пробе фекалий у новорожденных детей следует использовать антибактериальные препараты или бактериофаги для эрадикации данного микроорганизма и коррекции микробиоценоза кишечника [3].

В других работах указано, что колонизация кишечника *K. pneumoniae* осложняется инфекци-

онными заболеваниями в 30% случаев в неонатальном периоде у иммунокомпрометированных лиц. 60% детей, колонизированных *K. pneumoniae*, не проявляют клинических проявлений после выписки, хотя данный микроорганизм сохраняется в структуре их кишечного микробиоценоза на протяжении 1,5-2 лет [10, 14].

Патогенез осложнений инфекционного характера в неонатальном периоде имеет отличительные особенности. Морфофункциональная незрелость недоношенных детей, сниженная иммунологическая реактивность в сочетании с продолжительным периодом пребывания во внутрибольничной среде, множественными инвазивными манипуляциями формирует условия для течения воспалительного процесса инфекционного характера этиологическим агентами, колонизирующими слизистые оболочки нестерильных локусов условно-патогенными бактериями в стационаре [2].

K. pneumoniae, как типичный представитель условно-патогенных микроорганизмов, обладает патогенным потенциалом, однако причины развития инфекционных осложнений клебсиеллезной этиологии и патогенетические этапы остаются не до конца изученными.

Цель исследования — оценить экспрессию рецепторов CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺HLA-DR⁺, CD14⁺CD11b⁺ на моноцитах крови и уровень sIgA в копрофильтратах у недоношенных детей, при колонизации кишечника *K. pneumoniae* с различным генетическим профилем.

Материалы и методы

В исследование включено 43 недоношенных ребенка, рожденных в сроке 28-36 недель гестации, кишечник которых колонизирован *K. pneumoniae* с различными генами вирулентности.

Проведено проспективное сравнительное когортное обследование. Наблюдали 3 группы новорожденных, подразделенных по наличию генов, или их комбинаций, выделенных в штаммах *K. pneumoniae*. В 1-ю группу включены дети, кишечник которых колонизирован *K. pneumoniae* с геном *uge* (n = 11); 2-ю группу составили новорожденные, кишечник которых колонизирован *K. pneumoniae* с генами *uge* + *fim* (n = 20) и 3-ю группу — новорожденные, кишечник с комбинацией генов *uge* + *fim* + *kfu* (n = 12).

У всех матерей было получено добровольное информированное согласие на обработку персональных данных и медицинское вмешательство, необходимое для проведения исследования.

Микробиологическое исследование фекалий, включающее идентификацию выделенных ми-

кроорганизмов, и определение их антибиотикочувствительности осуществляли в возрасте 7-10-х, 14-17-х, 21-24-х, 28-31-х суток жизни и перед выпиской. Иммунологический анализ включал исследование пуповинной и периферической крови по достижении постконцептуального возраста (ПКВ) 37-40 недели, копрофильтратов на 7-10-е, 14-17-е, 21-24-е сутки.

Уровень экспрессии рецепторов активации CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺HLA-DR⁺, CD14⁺CD11b⁺ оценивали методом проточной цитометрии с использованием анализатора FACS Calibur фирмы Becton Dickinson (Германия) и наборов того же производителя. В копрофильтратах определяли количественное содержание sIgA методом иммуноферментного анализа при использовании тест-систем Immundiagnostik (Германия).

Статистические методы

При статистической обработке данных использовали пакет прикладных программ Statistica 6.0, IBM SPSS Statistics 22, Microsoft Excel 7.0 для Windows 98. Результаты исследования представляли в абсолютных и относительных значениях для качественных признаков; для количественных непараметрических — медианы (Me) и квартилей (Q_{0,25}-Q_{0,75}), параметрических — среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD). Уровень статистической значимости (p) принимали равным, или менее 0,05 (критерий Манна-Уитни).

Результаты и обсуждение

Колонизация кишечника *K. pneumoniae* в периоде новорожденности зависит от перинатальных факторов риска, рождения ребенка в срок, наличия сопутствующей патологии, ассоциированной с недоношенностью, характера вскармливания, патогенетических свойств возбудителя.

При использовании метода ПЦР в выделенных штаммах *K. pneumoniae* были определены

гены, ассоциированные с вирулентностью микроорганизма: *uge* — обеспечивает синтез липополисахарида, *fim* — способствует микробной адгезии, *kfu* — реализует связывание и поглощение железа (Fe³⁺) (табл. 1).

В большинстве случаев в штаммах *K. pneumoniae* у недоношенных детей различного гестационного возраста идентифицировано сочетание генов *uge* + *fim*, значительно реже изолированные гены *uge* и *fim*. В соответствии с выделенными генами, новорожденные были распределены на группы.

Анализ результатов микробиологического анализа показал, что *K. pneumoniae* с геном *uge* колонизирует кишечник новорожденного ребенка на 12,45±1,15 день, достоверно позднее на 15,65±1,39 и 22,18±3,27 день выявлялись штаммы с генами *uge* + *fim* и *kfu* + *uge* + *fim* (p_{1-3, 2-3} < 0,05). В 93,02% случаев количество *K. pneumoniae* превышало 10⁵ КОЕ/г. В 53,5% случаев *K. pneumoniae* колонизировала кишечник, микробиоценоз которого не содержал бактерий, выявляемых бактериологическим методом исследования. В 81,4% случаев новорожденные были выписаны домой с продолжающейся кишечной колонизацией *K. pneumoniae*. Необходимо отметить, что дети, в штаммах которых был детектирован ген *fim* в сочетании с другими генами, чаще выписывались домой с колонизацией кишечника *K. pneumoniae*, чем с изолированным геном *uge* (*uge* — 27,3%, *uge* + *fim* и *kfu* + *uge* + *fim* — 100,0% (p_{1-2, 1-3} < 0,05). Это вероятно обусловлено способностью бактериальных клеток с геном *fim* обеспечивающих прикрепление к энтероцитам за счет образования фимбрий. Эрадикация *K. pneumoniae* с геном *uge* происходила на фоне вытеснения другой микрофлорой (энтеробактерий или энтерококков). Длительность колонизации кишечника *K. pneumoniae* с геном *fim* в сочетании с другими генами колебалась от 15 до 180 суток жизни.

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ В ШТАММАХ *K. PNEUMONIAE* У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

TABLE 1. DISTRIBUTION OF VIRULENCE GENES IN *K. PNEUMONIAE* STRAINS IN PREMATURE INFANTS

Гены Genes	Новорожденные, родившиеся в сроке гестации от 28 до 36 недель, кишечник которых колонизирован <i>K. pneumoniae</i> (n = 43) Newborns born between 28 and 36 weeks' gestation whose intestines are colonized with <i>K. pneumoniae</i> (n = 43)	
	абс. abs.	%
<i>uge</i>	11	25,6
<i>uge</i> + <i>fim</i>	20	46,5
<i>kfu</i> + <i>uge</i> + <i>fim</i>	12	27,9

ТАБЛИЦА 2. НОЗОЛОГИЧЕСКИЕ ФОРМЫ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ДЕТЕЙ ПРИ ВЫПИСКЕ ИЗ СТАЦИОНАРА

TABLE 2. NOSOLOGICAL FORMS OF DISEASES IN CHILDREN AT DISCHARGE FROM THE HOSPITAL

Нозологическая форма Nosological form	1-я группа 1 st group (n = 11)		2-я группа 2 st group (n = 20)		3-я группа 3 st group (n = 12)	
	абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%
Бактериальный сепсис новорожденного (поздний) (вызванный <i>K. pneumoniae</i>) Bacterial sepsis of the newborn (late) (caused by <i>K. pneumoniae</i>)	2	8,0	0	0	0	0
Анемия недоношенных новорожденных Anemia of premature newborns	1	9,1	13	65*	7	58,3*
Неонатальная желтуха Jaundice of the newborn	5	45,5	15	75	5	41,7
Инфекция специфичная для перинатального периода Infection specific to the perinatal period	5	45,5	8	40,0	4	25
Пневмония Pneumonia	0	0	5	25	2	16,7
Ишемически-геморрагическое поражение ЦНС различной степени тяжести Ischemic-hemorrhagic damage to the central nervous system of varying severity	0	0	5	25	3	25
Ишемически-гипоксическое поражение ЦНС различной степени тяжести Ischemic-hypoxic damage to the central nervous system of varying severity	11	100	18	90	10	83,3
Бронхолегочная дисплазия, возникшая в перинатальном периоде Bronchopulmonary dysplasia arising in the perinatal period	0	0	5	25	1	8,3
Пролиферативная ретинопатия различной стадии Proliferative retinopathy of various stages	6	54,5	8	40,0	7	58,3
Синдром нарушения микрофлоры кишечника Intestinal microflora disorder syndrome	7	63,6	16	80	8	66,7

Примечание. Общее количество наблюдений не соответствует 100% вследствие выявления нескольких патологических признаков у одного и того же ребенка, * $p < 0,05$.

Note. The total number of observations does not correspond to 100% due to the detection of several pathological signs in the same child, * $p < 0.05$.

Гестационный возраст у недоношенных детей с *K. pneumoniae* не отличался и составлял $32,73 \pm 0,36$, $32,81 \pm 0,50$ и $32,57 \pm 0,55$ недель в 1-й, 2-й, 3-й группах соответственно. Масса тела также была сопоставима $1718,6 \pm 88,41$, $1717,5 \pm 123,4$ г и $1626,4 \pm 12,3,8$ г ($p_{1-2,1-3,2-3} > 0,05$ во всех случаях соответственно).

Большинство недоношенных детей всех групп родились в состоянии умеренной асфиксии, тяжелая асфиксия регистрировалась у 5,0% и 16,7% новорожденных 2-й и 3-й групп. Значения по шкале Апгар в группах не отличались и составляли у новорожденных на 1-й минуте — $5,36 \pm 0,28$, $5,34 \pm 0,25$ и $4,93 \pm 0,40$ баллов, на 5-й минуте —

ТАБЛИЦА 3. ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ НА МОНОЦИТАХ ПУПОВИННОЙ КРОВИ НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 3. EXPRESSIONS OF ACTIVATION MARKERS ON MONOCYTES IN THE CORD BLOOD OF PREMATURE NEWBORNS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	Новорожденные с <i>K. pneumoniae</i> и геном <i>uge</i> Newborns with <i>K. pneumoniae</i> and <i>uge</i> gene	Новорожденные с <i>K. pneumoniae</i> и генами <i>uge + fim</i> Newborns with <i>K. pneumoniae</i> and <i>uge + fim</i> genes	Новорожденные с <i>K. pneumoniae</i> и генами <i>kfu + uge + fim</i> Newborns with <i>K. pneumoniae</i> and <i>kfu + uge + fim</i> genes	p
Лейкоциты, 10 ⁹ /л Leukocytes, 10 ⁹ /L	6,0 (5,0-6,1)	5,5 (3,6-7,3)	5,0 (4,7-6,4)	
Моноциты, % Monocytes, %	12,0 (10,0-14,0)	13,5 (12,0-15,0)	11,8 (10,0-15,0)	
CD14 ⁺ CD282 ⁺ , %	54,0 (52,0-62,0)	48,0 (38,0-54,0)	49,0 (44,0-52,0)	p ₁₋₂ = 0,014 p ₁₋₃ = 0,024
CD14 ⁺ CD284 ⁺ , %	55,0 (45,0-57,0)	44,0 (36,0-48,0)	44,0 (34,0-46,0)	p ₁₋₂ = 0,013 p ₁₋₃ = 0,007
CD14 ⁺ CD11b ⁺ , %	56,0 (51,0-63,0)	45,0 (41,0-55,0)	44,0 (35,0-57,0)	p ₁₋₂ = 0,023 p ₁₋₃ = 0,012
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	57,0 (50,0-61,0)	48,0 (45,0-51,0)	49,0 (44,0-54,0)	p ₁₋₂ < 0,000 p ₁₋₃ = 0,008

Примечание. p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень статистической значимости между группами, группа 1 – новорожденные с *K. pneumoniae* и геном *uge*, группа 2 – новорожденные с *K. pneumoniae* и генами *uge + fim*, группа 3 – новорожденные с *K. pneumoniae* и генами *kfu + uge + fim*.

Note. p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃, level of statistical significance between groups; group 1, newborns with *K. pneumoniae* and the *uge* gene; group 2, newborns with *K. pneumoniae* and the *uge + fim* genes; group 3, newborns with *K. pneumoniae* and *kfu + uge + fim* genes.

6,73±0,14, 6,85±0,11 и 6,36±0,31 баллов жизни, p > 0,05 во всех случаях. Тяжелое состояние при рождении отмечалось в 90,9%, 100% и 83,3% в 1-й-, 2-й – и 3-й группах соответственно. Очень тяжелое состояние наблюдалось у одного ребенка в 1-й группе и двух детей во 2-й группе. Ведущими причинами тяжести состояния новорожденных детей явились: перенесенная гипоксия, синдром дыхательных расстройств, гипоксически-ишемическое поражение (ГИП) ЦНС, внутриутробная инфекция. При выписке из отделения патологии недоношенных новорожденных у детей в большинстве случаев сохранялось ГИП ЦНС (табл. 2).

Гипоксически-геморрагическое поражение ЦНС, пневмония, бронхо-легочная дисплазия наблюдалась только у детей 2-й и 3-й групп, в этих же группах детей статистически значимо чаще регистрировалась анемия новорожденных (уровень гемоглобина < 150 г/л в капиллярной крови, количество эритроцитов < 5 × 10¹²/л, гематокрит < 40%). Снижение уровня гемоглобина, у детей с *K. pneumoniae* в сочетании генов которого входит ген *kfu*, возможно, связано с его патогенным потенциалом – способностью утилизиро-

вать железо, тем самым усугубляя течение патологического процесса.

Синдром нарушения микрофлоры кишечника регистрировался, более чем у половины новорожденных. Воспалительные изменения, в стенке тонкого и толстого кишечника, вызванные условно-патогенной микрофлорой, сопровождалась усилением газообразования в полости кишки. Метеоризм у детей 1-й-, 2-й- и 3-й групп наблюдался в 72,7%, 95,0% и 83,3% случаев, срыгивания у 27,3%, 30,0% и 16,7% соответственно.

Решающее значение для первоначальной защиты от инфекции у новорожденных имеют механизмы врожденного иммунитета.

Результаты исследований представлены в таблице 3.

Одной из основных функций моноцитов является распознавание молекулярных паттернов, связанных с патогеном или повреждением (PAMPs или DAMP соответственно) с помощью различных Toll-подобных рецепторов (TLR). Проведение активационного сигнала, индуцированного TLR, происходит с участием нескольких вспомогательных молекул, одной из которых является трансмембранный белок (sCD14), который взаимодействуя с TLR, связывается с липо-

ТАБЛИЦА 4. ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ НА МОНОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ПО ДОСТИЖЕНИИ ПОСТКОНЦЕПТУАЛЬНОГО ВОЗРАСТА, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 4. EXPRESSIONS OF ACTIVATION MARKERS ON PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES OF PREMATURE INFANTS ON REACHING POSTCONCEPTUAL AGE, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	Новорожденные с <i>K. pneumoniae</i> и геном <i>uge</i> Newborns with <i>K. pneumoniae</i> and <i>uge</i> gene	Новорожденные с <i>K. pneumoniae</i> и генами <i>uge + fim</i> Newborns with <i>K. pneumoniae</i> and <i>uge + fim</i> genes	Новорожденные с <i>K. pneumoniae</i> и генами <i>kfu + uge + fim</i> Newborns with <i>K. pneumoniae</i> and <i>kfu + uge + fim</i> genes	p
Лейкоциты, 10 ⁹ /л Leukocytes, 10 ⁹ /L	6,6 (5,0-7,1)	7,0 (6,2-8,0)	6,0 (5,5-7,4)	
Моноциты, % Monocytes, %	10,0 (9-13,0)	13,0 (12,0-14,0)	12,0 (10,0-15,0)	
CD14 ⁺ CD282 ⁺ , %	69,0 (65,0-77,0)	56,0 (32,0-66,0)	58,0 (42,0-63,0)	p ₁₋₂ < 0,000 p ₁₋₃ < 0,000
CD14 ⁺ CD284 ⁺ , %	51,0 (49,0-52,0)	45,0 (35,0-55,0)	44,0 (36,0-55,0)	p ₁₋₂ = 0,015 p ₁₋₃ = 0,014
CD14 ⁺ CD11b ⁺ , %	63,0 (57,0-70,0)	56,0 (47,0-59,0)	55,0 (47,0-59,0)	p ₁₋₂ = 0,02 p ₁₋₃ = 0,010
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	64,0 (63,0-65,0)	55,0 (53,0-63,0)	55,0 (53,0-54,0)	p _{1-2, 1-3} = 0,010

Примечание. p_{1-2, 1-3, 2-3} – уровень статистической значимости между группами, группа 1 – новорожденные с *K. pneumoniae* и геном *uge*, группа 2 – новорожденные с *K. pneumoniae* и генами *uge + fim*, группа 3 – новорожденные с *K. pneumoniae* и генами *kfu + uge + fim*.

Note. p_{1-2, 1-3, 2-3}, level of statistical significance between groups; group 1, newborns with *K. pneumoniae* and the *uge* gene; group 2, newborns with *K. pneumoniae* and the *uge + fim* genes; group 3, newborns with *K. pneumoniae* and *kfu + uge + fim* genes.

полисахаридами и пептидогликанами бактерий, активируя клеточный иммунный ответ [11].

В статье, опубликованной нами ранее [6], было продемонстрировано снижение экспрессии маркеров активации моноцитов CD14⁺CD282⁺ и CD14⁺CD284⁺ у недоношенных детей с колонизацией кишечника *K. pneumoniae* в сравнении с новорожденными без колонизации данного микроорганизма. Аналогичные данные были получены в настоящем исследовании у детей, имеющих штаммы *K. pneumoniae* с комбинациями генов (*uge + fim* и *kfu + uge + fim*), в сравнении с изолированным геном *uge*, что свидетельствовало об отсутствии адекватной реакции на проникновение чужеродных патогенов при рождении.

Молекула CD11b является рецептором для C3-компонента комплемента. В результате комплексной гуморальной активации моноцитов через эту группу рецепторов происходят распознавание корпускулярных частиц, опсонизированных соответствующими иммуноглобулинами или комплементом, а далее их поглощение, кислородный взрыв, дегрануляция с образованием фаголизосомы, процессы киллинга, элиминации антигенов [4]. У новорожденных, колонизированных штаммами *K. pneumoniae* с геном *fim*,

отмечалось сокращение количества клеток экспрессирующих рецептор CD14⁺CD11b⁺, что указывало на нарушение адгезивной способности моноцитов к межклеточному взаимодействию. Также в этих группах детей наблюдалось снижение молекул HLA-DR на клеточной поверхности моноцитов, основная функция которых заключается в представлении антигена иммунокомпетентным клеткам адаптивного иммунитета, и снижение его уровня свидетельствует о нарушении антигенпрезентирующей функции, а также способности к продукции медиаторов воспаления, что увеличивает риск развития инфекционно-воспалительных заболеваний [7]. Не выявлены статистически значимые различия в количестве лейкоцитов и моноцитов.

По достижении постконцептуального возраста, выявленные изменения в показателях функциональной активности моноцитов при рождении, сохранялись (табл. 4).

В динамике периода обследования экспрессия маркеров активации моноцитов возрастала, за исключением рецепторов CD14⁺CD284⁺. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что снижение функциональной активности клеток моноцитарного ряда, снижает способность к

ТАБЛИЦА 5. УРОВЕНЬ sIgA В КОПРОФИЛЬТАХ У НОВОРОЖДЕННЫХ С *K. PNEUMONIAE* В ДИНАМИКЕ ПЕРИОДА ИССЛЕДОВАНИЯ

TABLE 5. LEVEL OF sIgA IN COPROPHYLES IN NEWBORNS WITH *K. PNEUMONIAE* DURING THE STUDY PERIOD

Сутки жизни Day of life	Новорожденные с <i>K. pneumoniae</i> и геном <i>uge</i> Newborns with <i>K. pneumoniae</i> and <i>uge</i> gene	Новорожденные с <i>K. pneumoniae</i> и генами <i>uge + fim</i> Newborns with <i>K. pneumoniae</i> and <i>uge + fim</i> genes	Новорожденные с <i>K. pneumoniae</i> и генами <i>kfu + uge + fim</i> Newborns with <i>K. pneumoniae</i> and <i>kfu + uge + fim</i> genes	p
	slgA, г/л slgA, g/L			
1	0,93 (0,45-1,61)	0,29 (0,22-0,89)	0,73 (0,44-0,95)	p ₁₋₂ = 0,005 p _{1-3, 2-3} = 0,02
14-17	7,18 (5,67-9,13)	5,21 (3,34-5,69)	5,43 (1,87-6,9)	p ₁₋₂ = 0,004 p ₁₋₃ = 0,018
21-24	10,6 (8,94-16,38)	8,55 (4,05-10,65)	9,15 (7,19-12,26)	p ₁₋₂ < 0,000 p ₁₋₃ = 0,025

Примечание. p_{1-2, 1-3, 2-3} – уровень статистической значимости между группами, группа 1 – новорожденные с *K. pneumoniae* и геном *uge*, группа 2 – новорожденные с *K. pneumoniae* и генами *uge + fim*, группа 3 – новорожденные с *K. pneumoniae* и генами *kfu + uge + fim*.

Note. p_{1-2, 1-3, 2-3}, level of statistical significance between groups; group 1, newborns with *K. pneumoniae* and the *uge* gene; group 2, newborns with *K. pneumoniae* and the *uge + fim* genes; group 3, newborns with *K. pneumoniae* and *kfu + uge + fim* genes.

элиминации *K. pneumoniae* при наличии в штаммах гена *fim*.

Элиминация патогенов является основным механизмом, с помощью которого sIgA блокирует прикрепление микроорганизмов к эпителиальным клеткам-мишеням слизистой оболочки, предотвращая тем самым повреждение поверхности, колонизацию и последующую массивную инвазию. Функции sIgA заключаются в распознавании множества антигенных эпитопов на поверхности вирусов и бактерий, а также белков, задерживать или отменять их внутреннюю способность прилипать к эпителию и /или проникать в него [13].

Проведенные исследования показали, что уровень sIgA в копрофильтатах у всех детей с *K. pneumoniae* в динамике периода обследования статистически значимо повышался (табл. 5).

При этом, у детей с *K. pneumoniae* и комбинацией генов (*uge + fim* и *kfu + uge + fim*) содержание sIgA сохранялось на низком уровне, в срав-

нении с наличием только гена (*uge*) в условиях нахождения в стационаре, что по-видимому объясняет эрадикацию данного патогена в 1-й группе детей и бактерионосительство *K. pneumoniae* у детей 2-й и 3-й групп при выписке из стационара.

Заключение

Таким образом, снижение экспрессии рецепторов CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺CD282⁺ и CD14⁺HLA-DR⁺ моноцитами крови и недостаточность продукции sIgA в толстом кишечнике обуславливают продолжительный период колонизации штаммов *K. pneumoniae* гена *fim* в сочетании с другими генами (от 15 до 180 суток), а также возможность реализации клебсилезной инфекции в последующие периоды жизни ребенка. Значительно чаще дети с комбинацией генов *uge + fim* и *kfu + uge + fim* выписывались из стационара с диагнозом «анемия», только в этих группах детей регистрировалось развитие анемии и бронхо-легочной дисплазии.

Список литературы / References

1. Краева Л.А., Кунилова Е.С., Бургасова О.А., Хамдулаева Г.Н., Данилова Е.М., Беспалова Г.И. Значение факторов патогенности некоторых видов стрептококков и клебсиелл при определении их этиологической роли в развитии воспалительных процессов респираторного тракта // Инфекция и иммунитет, 2020. Т. 10, № 1. С. 121-128. [Kraeva L.A., Kunilova E.S., Burgasova O.A., Xamdulaeva G.N., Danilova E.M., Bepalova G.I. The importance of pathogenicity factors of some Streptococcus spp. and Klebsiella spp. in determining their Etiological

role in the inflammatory processes of the respiratory tract. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, Vol. 10, no. 1, pp. 121-128. (In Russ.)] doi: 10/15789/2220-7619-ТИО-1339.

2. Никитина И.В., Герасимова А.В., Иванова Л.А., Круг-Йенсен О.А., Исаева И.Л., Ленюшкина А.А., Припутневич Т.В., Дегтярев Д.Н. Инфекции, ассоциированные с оказанием медицинской помощи, у критически больных недоношенных новорожденных: эпидемиология, клиническая картина и диагностика в современных условиях // Неонатология: новости, мнения, обучение, 2020. Т. 8, № 3. С.7-17. [Nikitina I.V., Gerasimova A.V., Ivanova L.A., Krog-Jensen O.A., Isaeva I.L., Lenyushkina A.A., Priputnevich T.V., Degtyarev D.N. Health care-associated infections in critically ill premature newborns: epidemiology, clinical picture and diagnosis in modern conditions. *Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie = Neonatology: News, Opinions, Training*, 2020, Vol. 8, no. 3, pp. 7-17. (In Russ.)]

3. Николаева И.В., Шайхиева Г.С., Григорьева Т.В., Васильев И.Ю., Герасимова Е.С., Леонтьева Н.С. Антибиотикорезистентность кишечных штаммов *Kl. pneumoniae*, выделенных у новорожденных детей в родильном доме // Практическая медицина, 2020. Т. 18, № 6. С.128-132. [Nikolaeva I.V., Shaikhieva G.S., Grigorieva T.V., Vasilyev I.Yu., Gerasimova E.S., Leontyeva N.S. Antibiotic resistance of intestinal strains of *Kl. Pneumoniae* in newborns in a maternity hospital. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2020, Vol. 18, no. 6, pp. 128-132. (In Russ.)]

4. Нестерова И.В., Митропанова М.Н., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В. Дисрегуляция системы цитокинов на уровне мукозального и системного иммунитета, ассоциированная с нарушениями микробиоценоза верхних дыхательных путей у детей с врожденной расщелиной губы и нёба // Иммунология, 2019. Т. 40, № 5. С. 62-71. [Nesterova I.V., Mitropanova M.N., Chudilova G.A., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V. Dysregulation of the cytokine system at the level of mucosal and systemic immunity associated with impaired microbiocenosis of the upper respiratory tract in children with congenital cleft lip and palate. *Immunologiya = Immunologiya*, 2019, Vol. 40, no. 5, pp. 62-71. (In Russ.)]

5. Ткаченко А.К., Марочкина Е.М. К понятию «Внутриутробное инфицирование и внутриутробная инфекция» // Гродненский государственный медицинский университет, 2017, № 1. С.103-107. [Tkachenko A.K., Romanova O.N., Marochkina E.M. To the concept "Intrauterine infection and fetal infection. *Grodienskiy gosudarstvennyy meditsinskiy universitet = Grodien State Medical University*, 2017, no. 1, pp. 103-107. (In Russ.)]

6. Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Маханек А.А., Устюжанин А.В. Клиническая характеристика и функциональная активность моноцитов крови и sIgA у недоношенных новорожденных, кишечник которых колонизирован *K. pneumonia* // Современные проблемы науки и образования, 2023, № 5. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=32927>. [Chistiakova G.N., Remizova I.I., Makhanek A.A., Ustyuzhanin A.V. Clinical characteristics and functional activity of blood monocytes and sIgA in premature newborns whose intestines are colonized by *K. pneumonia*. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2023, no. 5. [Electronic resource]. Access mode: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=32927>. (In Russ.)]

7. Чистякова Г.Н., Устьянцева Л.С., Ремизова И.И., Рюмин В.Е. Клинико-иммунологические факторы риска формирования бронхолегочной дисплазии тяжелой степени у детей с экстремально низкой массой тела // Проблемы репродукции, 2022. Т. 28, № 1. С. 106-114. [Chistiakova G.N., Ustyantseva L.S., Remizova I.I., Ryumin V.E. Clinical and immunological risk factors for the formation of severe broncho-pulmonary dysplasia in children with extremely low body weight. *Problemy reproduksii = Russian Journal of Immunology of Reproduction*, 2022, Vol. 28, no. 1, pp. 106-114. (In Russ.)]

8. Устюжанин А.В., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И. Филогенетический анализ родства штаммов *Klebsiella pneumoniae* по генам *uge* и *fim* // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2020, №. 6. С. 556-563. [Ustyuzhanin A.V., Chistyakova G.N., Remizova I.I. The relatedness of *Klebsiella pneumoniae* strains based on phylogenetic analysis of *uge* and *fim* genes. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2020, no. 6. pp. 556-563. (In Russ.)]

9. Шамина О.В., Самойлова Е.А., Новикова И.Е., Лазарева А.В. *Klebsiella pneumoniae*: микробиологическая характеристика, антибиотикорезистентность и вирулентность // Российский педиатрический журнал, 2020. № 3. С. 191-197. [Shamina O.V., Samoilova E.A., Novikova I.E., Lazareva A.V. *Klebsiella pneumoniae*: microbiological characteristics, antimicrobial resistance, and virulence. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal = Russian Pediatric Journal*, 2020, no. 3. pp. 191-197. (In Russ.)]

10. Akturk H., Sutcu M., Somer A., Aydin D., Cihan R., Ozdemir A., Coban A., Ince Z., Citak A., Salman A. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization in pediatric and neonatal intensive care units: risk factors for progression to infection. *Braz. J. Infect. Dis.*, 2016, Vol. 20, Iss. 2, pp. 134-140.

11. Corthésy B. Multi-faceted functions of secretory IgA at mucosal surfaces. *Front. Immunol.*, 2013, Vol. 4, 185. doi: 10.3389/fimmu.2013.00185.
12. De Biasi S., Neroni A., Nasi M., Lo Tartaro D., Borella R., Gibellini L., Lucaccioni L., Bertucci E., Lugli L., Miselli F., Bedetti L., Neri I., Ferrari F., Facchinetti F., Berardi A., Cossarizza A. Healthy preterm newborns: Altered innate immunity and impaired monocyte function. *Eur. J. Immunol.*, 2023, Vol. 53, no. 5, e2250224. doi: 10.1002/eji.202250224.
13. Gómez M., Valverde A., Del Campo R., Rodríguez J.M., Maldonado-Barragán A. Phenotypic and Molecular Characterization of Commensal, Community-Acquired and Nosocomial *Klebsiella* spp. *Microorganisms*, 2021, Vol. 9, no. 11, 2344. doi: 10.3390/microorganisms9112344.
14. Nordberg V., Jonsson K., Giske C.G., Iversen A., Aspevall O., Jonsson B., Camporeale A., Norman M., Navér L. Neonatal intestinal colonization with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae—a 5-year follow-up study. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2018, Vol. 24, Iss. 9, pp. 1004-1009.

Авторы:

Чистякова Г.Н. — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, руководитель научного отделения микробиологии, иммунологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Ремизова И.И. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и клинической микробиологии ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Устюжанин А.В. — к.м.н., ведущий научный сотрудник отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Маханёк А.А. — младший научный сотрудник отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Кадочникова П.А. — очный аспирант, врач — анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Абакарова Д.А. — младший научный сотрудник, врач-неонатолог 2 блока отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Chistyakova G.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Head, Scientific Department of Immunology, Microbiology of Pathomorphology and Cytodiagnostics, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

Remizova I.I., PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Immunology, Microbiology of Pathomorphology and Cytodiagnostics, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

Ustyuzhanin A.V., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnostics, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

Makhanyok A.A., Junior Research Associate, Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnostics, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

Kadochnikova P.A., Full-time Graduate Student, Anesthesiologist-Resuscitator, Intensive Care Unit, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

Abakarova D.A., Junior Research Associate, Neonatologist, Block 2 of the Intensive Care Unit, Ural Research Institute for Maternal and Child Care, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 08.04.2024
Отправлена на доработку 08.04.2024
Принята к печати 12.04.2024

Received 08.04.2024
Revision received 08.04.2024
Accepted 12.04.2024