

# Иммунологические критерии нарушения ранней постнатальной адаптации у новорожденных, перенесших гипоксическое воздействие

Е.Ю. Скарреднова, д.м.н. Г.Н. Чистякова, д.м.н., проф. В.В.Ковалев, к.б.н. И.А. Газиева, к.б.н. И.И. Ремизова (Отделение иммунологии и микробиологии ФГУ «НИИ ОММ Росмедтехнологий»)

## Immunologic criterions of the early postnatal adaptation disorder in the newborns come through hypoxia

E.J. Skarednova, G.N. Chistyakova, V.V. Kovalev, I.A. Gazieva, I.I. Remisova (Department of Immunology and Microbiology, Ural Research Institute of Maternity and Infancy Welfare)

### Резюме

**Цель исследования:** выявить иммунологические критерии нарушения ранней постнатальной адаптации у новорожденных, перенесших гипоксическое воздействие. Проведено клиничко-лабораторное обследование 60 доношенных новорожденных с асфиксией различной степени тяжести при рождении, из них 22 ребенка с тяжелой асфиксией и 38 детей с умеренной. Группу сравнения составили 30 здоровых новорожденных. Содержание IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , C-реактивного протеина (CRP), лактоферрина, ферритина, нитритов (NO $_2^-$ ) и нитратов (NO $_3^-$ ) в пуповинной крови и в 5-7-е сутки жизни определяли методом ИФА. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием пакета "Statistica 6.0", достоверность различий между группами оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. В пуповинной крови новорожденных, перенесших умеренную и тяжелую асфиксию в родах, выявлено повышение уровня провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$ , а также белков острой фазы CRP, лактоферрина и ферритина на фоне снижения содержания регуляторных цитокинов IL-4, IL-10 и метаболитов NO, что свидетельствует о «воспалительной» трансформации микроциркуляции вследствие активации иммунокомпетентных клеток, сопровождающейся усилением системного острофазового ответа, и дисфункции эндотелия, проявляющейся снижением активности NO-синтез, основного механизма регуляции сосудистого тонуса. Сохранение этих же изменений и отсутствие положительной динамики в отношении нормализации данных показателей к концу раннего неонатального периода являются лабораторными признаками высокого риска развития постгипоксических осложнений.

**Ключевые слова:** новорожденные, гипоксия, цитокины, белки острой фазы, метаболиты оксида азота

### Summary

**The purpose of the research:** search of immunologic criterions of the early postnatal adaptation disorder in the newborns come through asphyxia. Examination of 60 mature newborns with variable severity degree of asphyxia neonatorum including 22 newborns with heavy asphyxia and 38 children with moderate asphyxia neonatorum was performed. Group of comparison was made 30 healthy newborns. Level of cytokines IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , concentration of acute phase proteins C-reactive protein (CRP), lactoferrin, ferritin and level of stable NO-metabolites nitrites (NO $_2^-$ ) and nitrates (NO $_3^-$ ) in the umbilical blood and in 5-7 days of life were estimated by immunoenzyme analysis. Statistical data analysis was carried out with use of an application package "Statistica 6.0", the reliability of distinctions between groups was estimated by use the nonparametric U-Mann-Whitney criterion. In the umbilical blood of newborns with heavy and moderate asphyxia neonatorum in birth it was been found increase level of pro-inflammatory cytokines IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$  and acute phase proteins CRP, lactoferrin, ferritin against a background of decrease production of anti-inflammatory mediators IL-4, IL-10 and NO-metabolites, what is reflection of "inflammatory" transformation of microcirculation as a result of immune cells activation accompanied by intensification of system acute phase response, and endothelial dysfunction which evidence is reduction of NO-synthase activity as a basic mechanism of vascular tone regulation. Permanency the same parameter changes and absence positive dynamics about normalization these parameters during early neonatal period are laboratory predictors of high risk of posthypoxic complications development.

**Key words:** newborns, hypoxia, cytokines, acute phase proteins, NO-metabolites.

### Введение

Гипоксия плода и новорожденного сопровождается глубокими изменениями метаболизма и дезорганизацией нервных клеток головного мозга, а также нарушением мозговой гемодинамики [1, 2, 3, 4, 5]. Необходимость оценки ранней постнатальной адаптации новорожденных, перенесших хроническую или острую гипоксию, обусловлена особенностями реакций нервной ткани плода на стрессовое воздействие.

*Е.Ю. Скарреднова – заочный аспирант ФГУ «НИИ ОММ Росмедтехнологий»*

*Г.Н. Чистякова – д.м.н., руководитель отделения иммунологии и микробиологии*

*В.В. Ковалев – д.м.н., проф., директор ФГУ «НИИ ОММ Росмедтехнологий»*

*И.А. Газиева – к.б.н., с.н.с. отделения иммунологии и микробиологии*

*И.И. Ремизова – к.б.н., н.с. отделения иммунологии и микробиологии*

Они касаются устойчивости к дефициту кислорода, эксайтотоксических реакций, механизмов апоптоза, оксидативного стресса и природы вторичных повреждений ткани мозга, обусловленных в свою очередь особенностями метаболизма нервной ткани, неполной миелинизацией, незрелостью многих рецепторных систем и морфофункциональной организации гематоэнцефалического барьера [6, 7, 8, 9, 10].

Эффективной терапией гипоксически-ишемических повреждений в перинатальном периоде до сих пор не существует, прежде всего из-за недостаточно изученных тонких механизмов формирования данной патологии и нейробиологических особенностей развивающегося мозга. Для решения проблемы снижения перинатальной заболеваемости, обусловленной гипоксически-ишемическими повреждениями ЦНС, требуется существенная интенсификация фундаментальных исследований тонких механизмов ответных реакций нервной ткани на перинатальную гипоксию, изучение причин хронизации постишемического нейродегенеративного процесса и механизмов репарации поврежденной нервной ткани. Важнейшей задачей научного поиска остается разработка критериев доклинической оценки перинатальных поражений ЦНС. Решение данных проблем связывают, в частности, с изучением роли цитокинов, кислородных радикалов, белков острой фазы воспаления и других факторов в эксайтотоксическом повреждении нервной ткани [11, 12, 13, 14].

Пограничные (транзиторные) состояния, отражающие адаптацию организма к новым условиям жизни, при определенных условиях могут принимать патологические черты. Однако не все пограничные состояния и не у каждого ребенка переходят грань физиологической адаптации [9, 15]. Это диктует необходимость поиска предикторов постгипоксических деструктивных изменений ткани головного мозга, в качестве которых представляется целесообразным использование медиаторов межклеточного взаимодействия, острофазных пептидов и вазорегуляторов [16, 17, 18]. Исследование взаимосвязи между активацией системы иммунитета и нарушениями нейрогормональной регуляции новорожденных имеют первостепенное значение для расшифровки патогенетических механизмов гипоксически-ишемического поражения ЦНС, а оценка уровня нейротоксических медиаторов и эндогенных регуляторов в динамике раннего неонатального периода позволит прогнозировать возникновение различных осложнений в дальнейшие возрастные периоды [19, 20, 21, 22].

**Цель:** выявить иммунологические критерии нарушения ранней постнатальной адаптации у новорожденных, перенесших гипоксическое воздействие.

## Материал и методы

Проведено клинико-лабораторное обследование 60 доношенных новорожденных с асфиксией различной степени тяжести при рождении, из них 38 детей

с умеренной асфиксией (первая группа) и 22 ребенка – с тяжелой (вторая группа). Критериями исключения явились врожденные пороки развития, недоношенность, травматические поражения ЦНС. Группу сравнения составили 30 здоровых новорожденных от женщин, беременность которых протекала физиологически, дети были выписаны на 5-7-е сутки жизни. Иммунологические и биохимические параметры оценивали в пуповинной крови и на 5-7-е сутки жизни. Определение уровня медиаторов межклеточного взаимодействия осуществляли методом ИФА в соответствии с рекомендациями фирм-производителей. Содержание IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  определяли с использованием наборов фирмы «Biosource» (Бельгия), концентрацию С-реактивного протеина (CRP) – с помощью тест-систем фирмы «Biomerica» (США), уровень лактоферрина – с использованием наборов фирмы «Вектор-Бест» (Россия), содержание ферритина – с помощью наборов фирмы «Orgentec» (Германия). Содержание NO оценивали по уровню стабильных NO-метаболитов: нитритов (NO $_2^-$ ) и нитратов (NO $_3^-$ ) с использованием тест-систем «R&D» (США). Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием пакета «Statistica 6.0 $^{\circ}$ ». Проверку статистических гипотез проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, для преодоления проблемы множественных сравнений применяли поправку Бонферрони (различия средних считали статистически достоверными при уровне значимости  $p < 0,01$ ).

## Результаты и обсуждение

Новорожденные основных групп не отличались от детей группы сравнения по антропометрическим показателям. Из первой группы 18 детей (47,4%) были переведены на следующий этап выхаживания, во второй группе в этом нуждались 14 детей (63,6%), в группе здоровых новорожденных – только 2 ребенка (6,7%). В реанимационных мероприятиях нуждались 5 детей из первой группы (13,2%) и 16 детей из второй (72,7%), количество койко-дней, проведенных в отделении реанимации и интенсивной терапии составило в первой группе 7,4, во второй – 5,56. Признаки перинатального поражения ЦНС (ППЦНС) по данным нейросонографии зафиксированы у 14 детей (35,9%) из группы новорожденных, перенесших умеренную асфиксию, и у 16 детей (76,19%) из группы новорожденных, перенесших асфиксию тяжелой степени. У этих детей наблюдались неврологические нарушения в виде синдромов гипертоничности, угнетения функций ЦНС, внутричерепной гипертензии и вегетососудистых дисфункций. У большинства детей имело место сочетание двух и более клинических синдромов. Проявления внутриутробной инфекции (ВУИ) были выявлены у 7 новорожденных (17,95%) первой группы и 6 новорожденных (28,57%) второй группы.

Результаты иммунологического обследования

Таблица 1. Содержание цитокинов и белков острой фазы в динамике периода адаптации новорожденных, родившихся в асфиксии ( $M \pm s$ )

Показатели	Сутки жизни	Здоровые новорожденные (n=30)	Асфиксия средней степени (n=38)	Асфиксия тяжелой степени (n=22)	P <sub>1-2</sub>
<b>Провоспалительные цитокины</b>					
IL-1 $\beta$ , пкг/мл	пуповинная кровь	3,52 $\pm$ 0,40	2,48 $\pm$ 1,78*	2,36 $\pm$ 0,84*	0,415
	5-7-е сутки	4,06 $\pm$ 1,80	2,43 $\pm$ 1,62*	2,81 $\pm$ 2,65*	0,255
IL-6, пкг/мл	пуповинная кровь	32,53 $\pm$ 42,66	188,79 $\pm$ 233,0*	117,87 $\pm$ 179,9*	0,150
	5-7-е сутки	6,64 $\pm$ 5,71	12,20 $\pm$ 12,52*	7,41 $\pm$ 4,13	0,096
IL-8, пкг/мл	пуповинная кровь	17,79 $\pm$ 14,88	67,12 $\pm$ 147,97*	80,89 $\pm$ 91,82*	0,406
	5-7-е сутки	14,56 $\pm$ 8,77	334,79 $\pm$ 464,82*	195,82 $\pm$ 568,93*	0,219
TNF- $\alpha$ , пкг/мл	пуповинная кровь	31,21 $\pm$ 5,24	17,38 $\pm$ 10,05*	15,82 $\pm$ 5,69*	0,316
	5-7-е сутки	31,15 $\pm$ 5,69	18,03 $\pm$ 5,64	16,56 $\pm$ 6,16	0,180
IFN- $\gamma$ пкг/мл	пуповинная кровь	2,44 $\pm$ 4,12	9,37 $\pm$ 2,68*	9,39 $\pm$ 2,27*	0,488
	5-7-е сутки	1,92 $\pm$ 2,73	9,17 $\pm$ 3,29*	9,91 $\pm$ 2,95*	0,287
<b>Противовоспалительные цитокины</b>					
IL-4, пкг/мл	пуповинная кровь	3,24 $\pm$ 0,61	1,95 $\pm$ 0,61*	2,11 $\pm$ 0,92*	0,254
	5-7-е сутки	3,54 $\pm$ 0,90	1,88 $\pm$ 0,81*	1,99 $\pm$ 0,74*	0,346
IL-10, пкг/мл	пуповинная кровь	4,89 $\pm$ 1,36	1,70 $\pm$ 2,22*	3,84 $\pm$ 5,16	0,022
	5-7-е сутки	4,97 $\pm$ 0,87	1,74 $\pm$ 1,35*	1,63 $\pm$ 1,10*	0,415
<b>Белки острой фазы</b>					
CRP, мг/л	пуповинная кровь	1,11 $\pm$ 1,50	2,90 $\pm$ 4,02*	5,85 $\pm$ 5,62*	0,041
	5-7-е сутки	2,10 $\pm$ 2,65	4,64 $\pm$ 4,63*	4,59 $\pm$ 5,71*	0,493
Лактоферрин, нг/мл	пуповинная кровь	663,52 $\pm$ 420,74	1230,36 $\pm$ 911,37*	848,46 $\pm$ 579,07	0,103
	5-7-е сутки	1008,82 $\pm$ 1206,92	879,75 $\pm$ 556,85	783,07 $\pm$ 750,97	0,312
Ферритин, нг/мл	пуповинная кровь	58,64 $\pm$ 47,94	198,53 $\pm$ 128,25*	256,26 $\pm$ 187,30*	0,132
	5-7-е сутки	123,35 $\pm$ 42,72	253,52 $\pm$ 132,15*	390,26 $\pm$ 104,61*	0,002

*Примечание.* Звездочками отмечена достоверность различий по сравнению с группой здоровых новорожденных: \* -  $p < 0,01$ . P<sub>1-2</sub> – уровень значимости различий между группами детей: 1 – новорожденные с асфиксией средней степени тяжести, 2 – новорожденные с асфиксией тяжелой степени.

детей показали, что характерным признаком для новорожденных, перенесших гипоксическое воздействие, являлось снижение уровня IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  в пуповинной крови в 1,4-1,5 раза и 1,8-2,0 раза (таблица

1). Данные цитокины выполняют важнейшие функции запуска воспалительной реакции: активируют лейкоциты и эндотелий, способствуют адгезии лейкоцитов к внутренней выстилке стенки сосудов за счет индук-

ции экспрессии на эндотелиальных клетках молекул адгезии. Наряду с основными продуцентами, IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  синтезируются и клетками нейроэндокринной дифференцировки. Гипоксическое воздействие приводит к разрушению нейронов и астроглиальных клеток в зоне ишемизации, массивному повреждению тканей ЦНС, которое может определять снижение выработки и выброса в кровотоке провоспалительных цитокинов.

С момента рождения у детей основной группы наблюдался повышенный синтез IL-6 и IL-8. Так, концентрация IL-6 в пуповинной крови детей, перенесших асфиксию средней и тяжелой степени, превышала значения данного показателя в группе здоровых детей в 5,8 и 3,6 раза, IL-8 - в 3,8 и 4,6 раза соответственно. IL-6 является медиатором, определяющим динамическое равновесие в системе цитокиновой регуляции и нормализацию иммунологической адаптации, поскольку может подавлять синтез IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  на уровне транскрипции белка. IL-6 регулирует силу и продолжительность иммунного ответа, гемопоэза, а также процессы созревания антителопродуцирующих клеток, продукцию иммуноглобулинов и синтез белков острой фазы (фибриногена, гаптоглобина, СРБ и др.). Повышенный уровень этого цитокина на фоне угнетения синтеза классических провоспалительных цитокинов может играть роль в уравнивании воспалительного каскада и ограничении повреждения тканей агрессивными субстанциями.

Интерлейкин-8 относится к цитокинам, обладающим хемотаксической активностью и активирующим иммунокомпетентные клетки, обеспечивая их миграцию в очаг воспаления. Высокий уровень этого цитокина может указывать на активацию механизмов системной регуляции функционирования клеточного звена неспецифической резистентности, способствующих усилению локомоторной, секреторной и фагоцитарной активности нейтрофильных лейкоцитов. Кроме того, IL-8 выступает в качестве стимулятора процессов ангиогенеза, необходимых для осуществления восстановительной функции при завершении воспалительного процесса.

Концентрация IFN- $\gamma$  у новорожденных, перенесших умеренную и тяжелую асфиксию, была повышена в 3,8 раз относительно значения этого показателя в группе сравнения. IFN- $\gamma$ , продуцируемый CD8 $^{+}$ -лимфоцитами, NK-клетками и нейтрофилами, способствует дифференцировке Th0 в Th1 и препятствует формированию Th2-фенотипа. По данным литературы, IFN- $\gamma$  является ингибитором ангиогенеза, угнетая секрецию факторов, необходимых для роста и дифференцировки клеток.

Однако, как любой типовой патологический процесс, воспаление развивается по определенным внутренним законам при участии каскадного принципа под управлением химических регуляторов. Окончание воспалительного процесса следует расценивать не как истощение запаса провоспалительных факто-

ров, а как накопление и действие противовоспалительных медиаторов. Важнейшими представителями этого класса являются IL-4 и IL-10, которые подавляют секрецию активированными моноцитами IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , а также супероксидных радикалов.

Оценка концентрации цитокинов, относящихся к иммуnoreгуляторным, показала, что уровень IL-4 у новорожденных, перенесших умеренную и тяжелую асфиксию, был снижен в 1,9 и 1,8 раза соответственно по сравнению с аналогичным показателем в группе здоровых новорожденных. У детей, перенесших умеренную асфиксию, содержание IL-10 было снижено в 2,9 раза. Принимая во внимание избыточную продукцию Th1-цитокинов (IFN- $\gamma$ , IL-6 и IL-8) и снижение синтеза медиаторов Th2 (IL-4 и IL-10) у детей, перенесших гипоксическое воздействие, можно заключить, что дефицит кислорода способствует нарушению баланса Th1/Th2 на системном уровне и запуску Th1-зависимого иммунного ответа.

Обнаружение в периферической крови высокой концентрации медиаторов воспаления свидетельствует о нарушении принципа локальности функционирования цитокиновой системы, что может наблюдаться при патологических процессах, сопровождающихся генерализованной активацией клеток иммунной системы. Цитокины являются продуктами иммунокомпетентных клеток, в то же время последние сами служат мишенями действия цитокинов. От сбалансированности цитокиновой регуляции зависит состояние гомеостаза макроорганизма. Изучение уровня цитокинов в пуповинной крови позволяет получить информацию об исходном функциональном состоянии различных типов иммунокомпетентных клеток, выраженности воспалительного процесса, его переходе на системный уровень и прогнозе развития инфекционных и неинфекционных осложнений в последующие периоды жизни.

Первичные медиаторы межклеточного взаимодействия, в особенности IL-6, активируют белково-синтетическую функцию печени и стимулируют усиленную выработку белков острой фазы. У детей, перенесших умеренную и тяжелую асфиксию при рождении, содержание С-реактивного белка увеличивалось в 2,6 и 5,3 раза соответственно. Наряду с опосредованием воспалительных реакций, IL-6 участвует в регуляции пролиферативных процессов и метаболизме железа, определяя выработку основных железосвязывающих белков, в том числе ферритина и лактоферрина.

Уровень ферритина у новорожденных, перенесших умеренную и тяжелую асфиксию, превышал значение в группе здоровых детей в 3,4 и 4,4 раза соответственно, лактоферрина – в 1,9 и 1,3 раза. Ферритин является одним из основных белков-регуляторов феррокинетики, поскольку функционально предназначен для депонирования железа и передачи его по мере необходимости для синтеза железосодержащих белков и ферментов, жизненно необходимых для поддержания

Таблица 2. Содержание NO в динамике периода адаптации новорожденных, родившихся в асфиксии ( $M \pm s$ )

Показатели	Сутки жизни	Здоровые новорожденные (n=30)	Асфиксия средней степени (n=38)	Асфиксия тяжелой степени (n=22)	$P_{1,2}$
Общий NO <sub>2</sub> , мкмоль/л	пуповинная кровь	27,00 ± 12,47	10,70 ± 15,97*	12,04 ± 10,85*	0,409
	5-7-е сутки	32,04 ± 6,79	13,28 ± 15,32*	17,62 ± 14,27*	0,279
Эндогенный NO <sub>2</sub> , мкмоль/л	пуповинная кровь	20,43 ± 13,02	11,44 ± 19,34*	12,09 ± 13,11*	0,463
	5-7-е сутки	14,07 ± 7,63	13,71 ± 17,82	17,44 ± 16,21	0,328
NO <sub>1</sub> , мкмоль/л	пуповинная кровь	9,91 ± 13,51	1,39 ± 4,99*	2,20 ± 5,52*	0,343
	5-7-е сутки	17,97 ± 9,38	2,48 ± 6,46*	2,94 ± 7,10*	0,427

*Примечание.* Звездочками отмечена достоверность различий по сравнению с группой здоровых новорожденных: \* -  $p < 0,01$ .  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий между группами детей: 1 – новорожденные с асфиксией средней степени тяжести, 2 – новорожденные с асфиксией тяжелой степени.

высокой интенсивности энергообеспечения в неонатальном периоде. В то же время ферритин относится к белкам острой фазы воспаления, которые неспецифически повышаются в сыворотке крови при различных воспалительных процессах. Железосвязывающий гликопротеин лактоферрин также является одним из основных показателей острофазового ответа, фактором неспецифической защиты организма, относящимся к семейству трансферринов.

Повышение уровня провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$ , а также белков острой фазы CRP, лактоферрина и ферритина на фоне снижения содержания IL-4, IL-10 у новорожденных, перенесших асфиксию в родах, следует рассматривать как проявление «воспалительной» перестройки микроциркуляции вследствие активации врожденного и приобретенного компонентов иммунной системы. Очевидно, острый дефицит кислорода в интранатальном периоде является триггером для запуска данных механизмов.

Оценка динамики изменений иммунологических показателей в ранний неонатальный период показала, что если для процесса адаптации здоровых новорожденных было характерно снижение IL-6 и IL-8 (в 4,9 и 1,2 раза соответственно) и повышение уровня ферритина (в 2,1 раза) к концу первой недели жизни, то ранний неонатальный период новорожденных, перенесших гипоксическое воздействие, имел свои особенности. Так, у этих детей также наблюдалось снижение концентрации IL-6 (в 15-16 раз) и увеличение уровня ферритина (в 1,3 и 1,5 раза), однако, содержание хемоаттрактанта IL-8 не только не снижалось, но и продолжало нарастать и увеличивалось к 5-7-м суткам жизни в 5,0 и 2,4 раза относительно первоначального уровня.

К концу раннего неонатального периода у детей с умеренной асфиксией при рождении оставался сниженным уровень провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  (в 1,7 раза), а также иммунорегуляторных IL-4 и IL-10 (в 1,9 и 2,9 раза). Концентрация IL-6, IL-8 и IFN- $\gamma$  превышала аналогичные показатели, характерные для здоровых новорожденных, в 1,8; 23,0 и 4,8 раза соответственно. Из белков острой фазы только значение лактоферрина в этот период приближалось к уровню здоровых новорожденных, а содержание CRP и ферритина оставалось повышенным в 2,2 и 2,1 раза. Для новорожденных, перенесших тяжелую асфиксию, были характерны те же закономерности иммунологической перестройки, за исключением уровня IL-6 и CRP, значения которых приближались к показателям здоровых новорожденных. Так, к 5-7-м суткам жизни уровень первичных медиаторов воспаления IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  оставался сниженным в 1,4 и 1,9 раза, а содержание иммунорегуляторных цитокинов IL-4 и IL-10 – в 1,8 и 3,1 раза. Концентрация IL-8 и IFN- $\gamma$  превышала значения этих цитокинов у здоровых новорожденных в 13,5 и 5,2 раза соответственно. Уровень лактоферрина, так же как и у новорожденных с умеренной асфиксией при рождении, относительно нормализовался, а содержание ферритина превышало аналогичный показатель в группе сравнения в 3,2 раза.

Повышенная продукция провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, и IFN- $\gamma$  на фоне сниженного уровня цитокинов противовоспалительного действия IL-4 и IL-10 в 5-7 сутки жизни детей, родившихся в асфиксии, позволяет заключить, что в раннем неонатальном периоде у этих детей сохраняется «воспалительная» трансформация системы микроциркуляции, которая сопровождается усилением системного остро-

фазового ответа.

Изменения цитокинового окружения, происходящие в динамике развития иммунного ответа в ранний неонатальный период, оказывают непосредственное влияние на эндотелий сосудов. Известно, что эндотелий обладает уникальной способностью реагировать на различные гуморальные стимулы окружающей среды продукцией сосудосуживающих и сосудорасширяющих факторов. баланс которых и определяет тонус гладкомышечных клеток. При длительном воздействии повреждающих факторов, таких как воспаление, ишемия и др., происходит постепенное истощение компенсаторной "дилатирующей" способности эндотелия и преимущественным ответом эндотелиальных клеток на обычные физиологические стимулы становится гиперпродукция вазоконстрикторных медиаторов.

Особое значение в развитии и течении воспалительного процесса придается оксиду азота (NO). Количественная оценка NO-продуцирующей способности сосудистого эндотелия в условиях гипоксии отражает активность изоформ NO-синтаз, определяя эффективность работы стресс-лимитирующих факторов.

Содержание одного из конечных метаболитов NO<sub>2</sub>- в пуповинной крови детей, перенесших умеренную и тяжелую асфиксию при рождении, было в 2,5 и 2,2 раза ниже аналогичного показателя в группе здоровых новорожденных (таблица 2). Уровень нитритов у новорожденных со средней и умеренной асфиксией практически не отличался от концентрации NO<sub>2</sub>- при тяжелой асфиксии в родах, что свидетельствует об аналогичных нарушениях функции эндотелия при различной степени выраженности недостатка кислорода.

Содержание метаболитов NO<sub>3</sub>- в пуповинной крови новорожденных, перенесших умеренную асфиксию, было почти в 7,1 раза, а у детей с тяжелой асфиксией – в 4,5 раза ниже аналогичного показателя в группе здоровых новорожденных.

Дефицит NO у новорожденных, перенесших асфиксию при рождении, может свидетельствовать о снижении активности NO-синтаз под влиянием усиленной гибели нейтрофилов, а также дисфункции эндотелия, развивающейся в ответ на гипоксическое воздействие. В физиологических условиях в ответ на гипоксию наблюдается существенное увеличение продукции NO, что играет защитную роль, способствуя поддержанию кальциевого гомеостаза клеток и защищая их от гибели. Повышенная продукция NO в ответ на стрессовое воздействие приводит к снижению тонуса сосудов головного мозга и тем самым улучшению микроциркуляции и питания нервных клеток. Отсутствие такой компенсаторной реакции у детей основной группы свидетельствует о нарушении ферментативной функции ЦНС и эндотелия.

При возникновении дисфункции эндотелия приобретает атерогенные свойства, склонность к сосудосуживающим реакциям и тромбофилии, увеличению уровня экспрессии молекул адгезии, повышению вос-

палительной и оксидативной активности сыворотки крови. Снижение продукции NO может стать значительным стимулом к увеличению продукции эндотелина-1 и смещению акцента в процессах адаптации в сторону преобладания прессорных факторов. Дефицит NO, являющегося самым сильным из известных вазодилататоров, неизбежно приводит к вазоспазму, увеличению периферического сопротивления кровотоку, гипоперфузии тканей.

Динамика содержания NO в ранний неонатальный период является отражением процесса адаптации новорожденных. Нормализация уровня данного вазодилататора свидетельствует об эффективности работы стресс-лимитирующих систем. Результаты проведенных исследований показали, что содержание NO<sub>2</sub>- у здоровых новорожденных к 5-7-м суткам жизни проявляло тенденцию к увеличению (на 19% от исходного уровня в пуповинной крови), а тенденция к снижению уровня эндогенного NO<sub>2</sub>- у этих детей может свидетельствовать о поступлении данного элемента с пищей и увеличении доли экзогенного NO<sub>2</sub>-. Концентрация NO<sub>3</sub>- в динамике раннего периода адаптации здоровых новорожденных повышалась на 81% от исходного уровня. Такая направленность изменений содержания NO наблюдалась и у новорожденных, перенесших гипоксическое воздействие. Так, уровень NO<sub>2</sub>- у новорожденных с умеренной асфиксией увеличивался на 24%, а содержание NO<sub>3</sub>- - на 78%. Содержание NO<sub>2</sub>- у новорожденных с тяжелой асфиксией увеличивалось на 46%, а уровень NO<sub>3</sub>- - на 34%. Несмотря на эти динамические изменения, уровень метаболитов NO у детей, перенесших асфиксию, не достигал значений, характерных для здоровых новорожденных. На 5-7-е сутки уровень общего NO<sub>2</sub>- у детей, перенесших умеренную и тяжелую асфиксию при рождении, был в 2,4 и 1,8 раза ниже аналогичного показателя в группе здоровых новорожденных. Концентрация эндогенного NO<sub>2</sub>- у этих детей достигала значения данного показателя в группе сравнения, а уровень нитритов у детей с тяжелой и умеренной асфиксией был снижен в 7,2 и 6,1 раза.

## Заключение

Перенесенная при рождении асфиксия сопровождается значительной активацией параметров гомеостаза. Иммунная система как система быстрого реагирования тесно связана с формированием синдрома стрессорного ответа и функцией стресслимитирующих механизмов. Повышение в сыворотке крови провоспалительных цитокинов и усиление системного острофазового ответа свидетельствует о развитии неспецифической гиперактивации иммунной и нейроэндокринной систем в ответ на гипоксическое воздействие. Циркуляция активированных иммунокомпетентных клеток и высокий уровень агрессивных медиаторов воспаления оказывает непосредственное влияние на функциональное состояние эндотелия и приводит к его дисфункции. Полученные дан-

ные служат подтверждением того, что эндотелиопатия является частью внутрисосудистого воспалительного ответа. При длительном воздействии активирующих факторов, в том числе агрессивных субстанций, и повреждении эндотелиальных клеток создаются условия для прогрессирования универсального патологического процесса воспаления. Поскольку эндотелий принимает участие в поддержании сосудистого гомеостаза, а также постнатальной неоваскуляризации в условиях ишемии *in vivo* в качестве механизма репарации, направленного на улучшение перфузии тканей, дисфункция эндотелия может обуславливать патологию ангиогенеза, внося существенный вклад в прогрессирование деструктивных процессов ЦНС. «Воспалительная» трансформация системы микроциркуляции сопровождается нарушением экспрессии NO-синтазы как основного механизма регуляции сосудистого тонуса с

ослаблением депрессорной функции эндотелия.

По исходному уровню цитокинов в пуповинной крови и динамике изменений их содержания в периферической крови в раннем неонатальном периоде можно судить о прогнозе возникновения различных осложнений в дальнейшие возрастные периоды. Повышенный уровень IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$  а также белков острой фазы CRP и ферритина на фоне снижения уровня цитокинов противовоспалительного действия IL-4 и IL-10 и метаболитов NO в пуповинной крови детей, перенесших асфиксию при рождении, и отсутствии положительной динамики в отношении нормализации данных показателей к концу раннего неонатального периода свидетельствуют о нарушении ранней постнатальной адаптации этих детей и являются критериями высокого риска развития постгипоксических осложнений.

## Литература:

1. Герасимова М.М., Самсонова Е.Г., Гнусаев С.Ф. Ключико-патогенетическое значение интерлейкина-1 $\alpha$  при гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2006; 3: 18.
2. Громада Н.Е. Цитокиновый профиль и количественное значение ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови у новорожденных с гипоксическим перинатальным поражением центральной нервной системы. Цитокины и воспаление 2008; 7 (3): 14-8.
3. Northington F.J., Ferriero D.M., Graham E.M. et al. Early neurodegeneration after hypoxia-ischemia in neonatal rat is necrosis while delayed neuronal death is apoptosis. *Neurobiol Dis* 2001; 8 (2): 207-19.
4. Смолянинов Г.В., Орлов А.В. Комплексная диагностика гипоксических поражений мозга плода. Российский вестник акушера-гинеколога 2008; 3: 56-8.
5. Рогаткин С.О., Блинов Д.В., Володин Н.Н. и др. Перспективы применения иммуноферментного анализа нейроспецифических антигенов в перинатальной неврологии. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии 2003; 2 (4): 8-14.
6. Малышев И.Ю., Монастырская Е.А., Смирин Б.В., Манухина Е.Б. Гипоксия и оксид азота. Вестник РАМН 2000; 9: 44-8.
7. Dommergues M.A., Plaisant F., Vemey C., Gressens P. Early microglial activation following neonatal excitotoxic brain damage in mice: a potential target for neuroprotection. *Neuroscience* 2003; 121: 619-8.
8. Андреева А.А., Евсюкова И.И., Опарина Т.И., Арутюнян А.В. Продукция окиси азота и состояние центральной гемодинамики у новорожденных, здоровых и перенесших гипоксию. Педиатрия 2004; 1: 18-2.
9. Громада Н.Е., Ковтун О.П. Особенности иммунологической реактивности и клеточного энергообмена у новорожденных с тяжелым гипоксическим перинатальным поражением центральной нервной системы. Вестник Уральской медицинской академической науки 2008; 4: 51-4.
10. Видеркер Т.В., Ремнева О.В., Фадеева Н.И. Клинические, инструментальные и биохимические маркеры гипоксии плода в прогнозировании поражений центральной нервной системы у новорожденного. Российский вестник акушера-гинеколога 2008; 6: 4-8.
11. Лебедев С.В., Карасев А.В., Рогаткин С.О. и др. Проблемы и перспективы экспериментального моделирования перинатальных гипоксически-ишемических повреждений центральной нервной системы. Вестник Российской АМН 2009; 2: 21-4.
12. Крупицкая Л.И., Цейликман В.Э., Попова А.С. и др. Ксантиноксидаза как показатель адаптации новорожденных. Клиническая лабораторная диагностика 2008; 13: 16-7.
13. Симоненков А.П., Федоров В.Д. Современная концепция стресса и адаптации с учетом новых данных о генезе тканевой гипоксии. Вестник Российской АМН 2008; 5: 7-5.
14. Голосная Г.С., Петрухин А.С., Маркевич К.А., Трифонова О.Е. Изменение уровня белка S-100 у новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС. Педиатрия 2004; 1: 10-5.
15. Гончарова О.В., Баканов М.И., Муталов А.Г. и др. Современные биохимические критерии диагностики перинатальных гипоксических поражений ЦНС у новорожденных детей. Российский педиатрический журнал 2007; 4: 13-8.
16. Громада Н.Е., Ковтун О.П. Иммунные нарушения и биоэнергетическая недостаточность у детей с перинатальными гипоксическими поражениями центральной нервной системы и их коррекция. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2007; 1: 26-30.
17. Марков Х.М. Оксид азота и ишемическая болезнь сердца. Вестник Российской АМН 2009; 2: 40-6.
18. Kaufmann P.A., Rinoldi O., Gnechhi-Ruscione T. Systemic inhibition of NOS unmasks neuronal constraint of maximal myocardial blood flow in human. *Circulation* 2004; 110: 1431-6.
19. Титов В.Н. Биологическая функция стресса, врожденный иммунитет, реакция воспаления и артериальная гипертензия. Клиническая лабораторная диагностика 2008; 12: 3-16.
20. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека. *Лабораторная медицина* 2005; 7: 19-4.
21. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Юрченко Л.Н. Системное воспаление с позиции теории типового патологического процесса. Цитокины и воспаление 2007; 4: 9-21.
22. Шматкова Ю.В., Бершова Т.В., Басаргина Е.Н., Баканов М.И. Особенности энергетического обмена клетки и цитокинового статуса у детей с хронической сердечной недостаточностью. Педиатрия 2006; 2: 17-1.