

**ГРОМАДА
НАТАЛЬЯ ЕВГЕНЬЕВНА**

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ
НАРУШЕНИЯ У ДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С ГИПОКСИЧЕСКИМ
ПЕРИНАТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ
СИСТЕМЫ, ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИСХОДОВ
И ОПТИМИЗАЦИЯ ЛЕЧЕНИЯ**

14.00.09 – Педиатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Екатеринбург, 2009

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный консультант
доктор медицинских наук,
профессор

Ковтун Ольга Петровна

Официальные оппоненты
доктор медицинских наук,
профессор

Дегтярева Марина Васильевна

доктор медицинских наук,
профессор

Романенко Владислав Александрович

доктор медицинских наук,
профессор

Зеленцова Вера Леонидовна

Ведущая организация: Федеральное Государственное учреждение
«Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Федерального агентства
по высокотехнологичной медицинской помощи»

Захита состоится «17 июня 2009 г. в часов на заседании совета по
захите

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Проблема перинатального гипоксического поражения ЦНС у детей остается актуальной и социально значимой, что обусловлено высокой распространенностью патологии, развитием неврологических, соматических расстройств, формированием инвалидности и снижением качества жизни (Володин Н.Н., 2001; Ахмадеева Э.Н., 2005; Барашнев Ю.И., 2005; Язык Г.В. и др., 2007; Баранов А.А., 2008).

Использование передовых технологий в перинатальной практике позволило уточнить патогенетические механизмы, клиническую и морфологическую структуру заболевания для новорожденных различного гестационного возраста, локализацию церебральных поражений, разработать единые подходы к терминологии, предложить новую классификацию поражений ЦНС (Левитина Е.В., 2001; Хачатрян Л.Г., 2003; Володин Н.Н. и др., 2007; Ковтун О.П. и др., 2008;). В то же время, патогенетические модели формирования церебральных морфологических изменений, особенности адаптации, структура клинических форм данной патологии на этапах реабилитации у доношенных детей остаются неуточненными (Пальчик А.Б., 2006; Мартынюк Н.Ю., 2008; Пиянзин А.И., 2008; Angelsen N.K. et al., 2001; Ballanyi K., 2004; Murata Y. et al., 2005).

Недостаточно изучены последовательность, динамика восстановления функциональной активности ЦНС у доношенных новорожденных, перенесших критические состояния в неонатальном периоде, и структура исходов заболевания (Лукашевич И.П., 2008; Сигова Ю.А., 2008; Saylir C.F. et al., 2003; Thome U.H et al., 2005; Bracci R. et al., 2006).

Современное развитие педиатрии и перинатальной неврологии характеризуется успехами в изучении критериев ранней диагностики и оценки тяжести гипоксического поражения ЦНС (Шабалов Н.П., 2004; Барашнев Ю.И., 2005; Шантарина Е.В., 2005; Khong P.L. et al., 2004; Vries

L.S. de., 2005). Несмотря на проводимые исследования, до настоящего времени недостаточно разработаны клинико-инструментальные критерии оценки тяжести состояния и отдаленных последствий гипоксического поражения ЦНС у доношенных детей (Трифонова О.Е., 2005; Ремизова Н.В., 2007; Palmer C., 2001; Eichler F. et al., 2006; Back S.A., 2006).

Обоснованность патогенетической терапии при гипоксическом поражении ЦНС не вызывает сомнений у клиницистов, однако, несмотря на большой спектр используемых традиционных лекарственных средств, вопросы выбора и применения нейрометаболической терапии требуют детальной разработки (Николаева Е.А. и соавт., 2005; Брин И.Л., 2006; Царегородцев А.Д. и др., 2006; Сухоруков В.С., 2008).

В течение последних 15 лет широко изучается состояние иммунной системы, изменение энзиматической активности иммунокомпетентных клеток, нейробиохимические маркеры деструктивных и репаративных механизмов при гипоксии у новорожденных (Дегтярева М.В., 2000; Володин Н.Н. и др., 2001; Голосная Г.С., 2005; Самсонова Е.Г., 2007; Серкина Е.В., 2008; Laborada G. et al., 2004; Suzuki M. et al., 2006; Quiniou C. et al., 2008). Вместе с тем, исследования, посвященные изучению содержания ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови у младенцев с гипоксией, единичны и информация о них разноречива (Вознюк И.А. и др., 2000; Софонов В.В. и др., 2006; Tuaeva N.O. et al., 2005; Delivoria-Papadopoulos M. et al., 2008).

Данные последних лет свидетельствуют о влиянии перенесенной в перинатальном периоде гипоксии на формирование митохондриальной и иммунной недостаточности (Измайлова Т.Д. и др., 2005; Николаева Е.А. и др., 2007; Сухоруков В.С. и др., 2007; Синчихин С.П. и др., 2008; Znamenska T.K. et al., 2007). В то же время, представления о значении качественных изменений лимфоцитов на уровне внутриклеточных ферментов, цитокин-гормональных реакций, которые могут влиять на реализацию иммунного ответа и ход патологического процесса в ЦНС, имеют неоднородный

характер (Пшенникова М.Г., 2000; Воеводин Д.А. и др., 2006; Rodriguez M. et al., 2001; Hava M.G. et al., 2004).

Комплексное изучение цитокин-индуцированных и цитокин-гормональных реакций, определение субпопуляционного состава лимфоцитов, активности ферментов клеточного энергообмена, количества ДНК в ядрах лимфоцитов при гипоксическом поражении ЦНС в зависимости от степени тяжести у доношенных детей до настоящего времени не проводилось. Исследования в этом направлении немногочисленны, чаще всего носят фрагментарный характер (Гончарова О.В. и др., 2007; Зиновьева Т.Е., 2008; Webster J.I., 2002; Hupperts B., 2004; Aly H. et al., 2006).

Поиск универсальных, единых патофизиологических механизмов функционирования различных систем: иммунной, нервной, эндокринной, показателей клеточного энергообмена - станет предпосылкой для изучения общих и частных закономерностей патогенеза гипоксического поражения ЦНС в остром периоде заболевания и на этапах реабилитации у доношенных новорожденных, основой для разработки алгоритмов определения тяжести состояния и модели прогнозирования исходов болезни по стартовым клинико-анамнестическим и лабораторно-инструментальным показателям.

Цель исследования - установить закономерности формирования иммунологических и структурно-метаболических нарушений при гипоксическом поражении ЦНС у доношенных новорожденных на различных этапах наблюдения, разработать патогенетическую модель заболевания, выявить маркеры оценки тяжести и прогнозирования с последующей оптимизацией лечения.

Задачи исследования

1. Представить клинико-инструментальную характеристику гипоксического перинатального поражения ЦНС у доношенных новорожденных в остром периоде заболевания и на 1-м году жизни в зависимости от степени тяжести.

2. Выявить особенности развития и состояние здоровья доношенных детей с последствиями перинатального поражения ЦНС гипоксического генеза в течение 3-х лет катамнестического наблюдения.

3. Исследовать показатели иммунологического профиля и определить участие цитокиновой регуляторной сети в механизмах нейроиммuno-эндокринного взаимодействия у новорожденных с гипоксией, в зависимости от степени тяжести и морфологических изменений ЦНС.

4. Определить количественное содержание ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови, маркеров апоптоза, в зависимости от тяжести гипоксического поражения ЦНС.

5. Установить особенности нарушения клеточного энергообмена по результатам цитохимического исследования ферментов лимфоцитов в периферической крови СДГ, α -ГФДГ, МДГ, ГДГ, ЛДГ, в зависимости от тяжести процесса в ЦНС.

6. Выявить корреляционные связи между структурно-метаболическими, иммунологическими, нейробиохимическими показателями и факторами апоптоза и разработать патогенетическую модель формирования компенсаторно-адаптационных реакций и патологических механизмов при гипоксическом поражении ЦНС в зависимости от степени тяжести.

7. Предложить методы патогенетической терапии перинатального поражения ЦНС гипоксического генеза на основе применения препарата Элькар, информационной радиоволновой терапии (ИВТ) и их сочетания.

8. Создать алгоритм прогнозирования исходов гипоксического поражения ЦНС на базе стартовых показателей оценки состояния здоровья доношенных новорожденных.

Научная новизна

Впервые у доношенных детей проведено комплексное исследование показателей иммунологического профиля и цитокин-индуцированных реакций с гормональными эффектами интерлейкинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-4) в крови и ликворе, определение субпопуляционного состава лимфоцитов, количества ДНК в ядрах лимфоцитов, нейробиохимических маркеров (НСЕ), активности внутриклеточных ферментов, в зависимости от степени тяжести гипоксического перинатального поражения ЦНС. Результаты исследований, выполненные на информативной, мигрирующей,

полипотентной клетке – лимфоцит, позволили построить патогенетические модели формирования механизмов компенсаторно-адаптационных и патологических процессов в ЦНС в неонатальном периоде.

Установлено, что универсальной реакцией в остром периоде заболевания, независимо от степени тяжести гипоксии, является увеличение цитотоксических CD8+, лимфоцитов, моноцитов, концентрации цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-4, уровня кортизола и повышение клеточного энергообмена (СДГ, α -ГФДГ, ГДГ, ЛДГ).

Доказано, что формирование компенсаторно-адаптивных механизмов в неонатальном периоде у детей с гипоксией легкой степени имеет физиологический характер и сопровождается активацией стресс-системы, с увеличением уровня кортизола, концентрации цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-4 в сыворотке крови, субпопуляций лимфоцитов CD20+, CD4+, CD3+, CD8+, повышением активности клеточных ферментов СДГ, α -ГФДГ, ГДГ, ЛДГ и нарастанием количества ДНК в ядрах лимфоцитов при нормальных показателях концентрации НСЕ. Показано, что при поражении ЦНС средней тяжести в остром периоде заболевания механизмы формирования компенсаторно-адаптивных реакций имеют высокий уровень «напряжения» цитокин-индуцированных и гормональных реакций: увеличение концентрации ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-4, уровня кортизола, количества субпопуляций лимфоцитов CD20+, CD3+, CD4+, CD25+, CD8+, естественных киллерных клеток CD16+, маркеров Fas-индуцированного апоптоза (CD95+), повышение клеточного энергообмена СДГ, α -ГФДГ, ГДГ, МДГ, ЛДГ, концентрации НСЕ при умеренном снижении количества ДНК в ядрах лимфоцитов.

Установлено, что в отличие от вышеперечисленных изменений, у новорожденных с тяжелой гипоксией механизмы формирования патологического процесса в раннем неонатальном периоде характеризуются снижением уровня кортизола в крови, нарастанием концентрации НСЕ, высокими показателями интерлейкинов ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6, в крови и

ликворе, стабильной активацией Fas-индуцированного апоптоза, с последующей лимфоцитопенией (CD3+, CD4+, CD20+, CD8+), моноцитопенией, низкими (более чем в 3 раза, по сравнению с нормой) показателями количества ДНК в ядрах лимфоцитов, а также «депрессией» клеточного энергообмена со снижением СДГ, а-ГФДГ и ЛДГ и повышением активности митохондриальных ферментов МДГ и ГДГ.

Впервые изменение количественного содержания ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови (кариометрия) представлено в качестве маркера апоптоза и определено его значение в патогенезе заболевания. Доказано, что низкие показатели кариометрии коррелируют с тяжестью патологического процесса в ЦНС.

На основании результатов трехлетнего катамнестического наблюдения установлено, что частота соматических заболеваний и неврологических расстройств определяется тяжестью перенесенной гипоксии в неонатальном периоде. Новизна работы состоит в подтверждении того, что развитие вторичной иммунной и митохондриальной недостаточности является патогенетической основой формирования отдаленных неврологических и соматических нарушений при гипоксическом поражении ЦНС.

Впервые на клиническом материале, верифицированном иммунологическими, цитохимическими параметрами и данными кариометрии, патогенетически обоснованы показания для применения препарата Элькар в сочетании с информационной радиоволновой терапией (ИВТ) при лечении перинатальных гипоксических поражений ЦНС у детей. Доказано, что сочетание этих методов лечения способствует регрессу соматических и неврологических отклонений, уменьшает частоту двигательных, психоречевых и сомнологических расстройств.

Новизна исследования заключается в создании алгоритма определения тяжести состояния и правила прогнозирования исходов заболевания у доношенных детей по стартовым клинико-анамнестическим и лабораторно-инструментальным показателям.

Практическая значимость

По результатам проведенных исследований определены патогенетические модели формирования гипоксического поражения ЦНС у доношенных детей в зависимости от степени тяжести, что позволяет проводить раннюю, комплексную дифференциальную диагностику данной патологии. Показаны особенности клинической картины, синдромальной структуры и исходов ППЦНС, проанализированы результаты лабораторно-инструментальных данных с различными структурными повреждениями, позволяющие неонатологам, педиатрам определить последовательность восстановления утраченной функциональной активности нервной системы и соматической сферы у доношенных детей.

Разработанный метод определения степени тяжести перинатальной гипоксии (кариометрия), с высокой чувствительностью и специфичностью (89% и 96%) дает возможность по стартовым показателям неонатального периода педиатрам, неонатологам, неврологам разработать тактику ведения детей и прогноз заболевания.

Выявленные клинико-анамнестические и лабораторно-инструментальные информативные признаки, особенности адаптационно-компенсаторных иммунно-гормональных и цитокин-индуцированных реакций, а также показатели ферментативной митохондриальной активности, данные кариометрии и нейробиохимические показатели позволяют врачам на раннем этапе прогнозировать неврологические, соматические исходы у доношенных детей и разработать индивидуальные схемы наблюдения.

Полученные данные свидетельствуют в пользу целесообразности применения препарата Элькар в сочетании с ИВТ в комплексной терапии перинатального гипоксического поражения ЦНС у доношенных детей. Предложенный метод повышает эффективность проводимых терапевтических мероприятий, направленных на восстановление двигательного, психоречевого дефицита, соматических расстройств и предупреждение развития вторичной митохондриальной и иммунной недостаточности.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Перинатальное поражение ЦНС гипоксического генеза у доношенных новорожденных характеризуется полисиндромностью клинических проявлений, торpidностью неврологических и соматических расстройств,

формированием структурно-метаболических нарушений, развитием вторичной иммунной и митохондриальной недостаточности.

2. Механизмы формирования компенсаторно-адаптационных и патологических нарушений в ЦНС зависят от степени тяжести гипоксического поражения и обусловлены иммунологическими цитокин-индуцированными реакциями, цитокин-гормональными эффектами интерлейкинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-4), перераспределением иммунокомпетентных клеток, изменением количества ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови, нарушением ферментативного статуса клетки.

3. Лимфоцит, как интегративная, информационная, мигрирующая, иммунокомпетентная клетка, является универсальной моделью для исследования механизмов взаимодействия иммунной, эндокринной, нервной системы, клеточного энергообмена при гипоксическом поражении ЦНС у доношенных детей.

4. Определение содержания ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови по оптической плотности (кариометрия) в неонатальном периоде является наиболее чувствительным и специфичным показателем в оценке степени тяжести гипоксического поражения ЦНС и имеет прогностическое значение.

5. Применение препарата Элькар в сочетании с информационной радиоволновой терапией (ИВТ) патогенетически обосновано: способствует благоприятному исходу заболевания, сокращает частоту двигательного и психоречевого дефицита, нормализует иммунологические показатели и метаболический статус иммунокомпетентных клеток.

Внедрение результатов исследования

Результаты работы по диагностике степени тяжести перинатального гипоксического поражения ЦНС, прогнозирования исходов заболевания используются в практической деятельности неонатологов и педиатров отделений патологии новорожденных № 1, 2, 4 МУ ГКБ № 5, отделения новорожденных роддома и кабинета катамнестического наблюдения МУ ГКБ № 14 г. Екатеринбурга.

Клинико-лабораторная оценка эффективности применения препарата Элькар и информационной радиоволновой терапии в комплексе лечения

гипоксического поражения ЦНС у детей в раннем восстановительном периоде и в течение 3 лет используются неонатологами и педиатрами в отделениях МУ ГКБ № 5, ОДКБ № 1, педиатрами поликлинических отделений г. Екатеринбурга.

Данные методики применяются в практической работе врачей-иммунологов отделения клинической иммунологии ФГУН ЕМНЦ профилактики и охраны здоровья рабочих промышленных предприятий, внедрены в практическую деятельность областного центра планирования семьи и репродукции г. Екатеринбурга. Результаты проведенного исследования используются в лекционном курсе и практических занятиях для врачей-курсантов ФПК и ПП, аспирантов, ординаторов, интернов и студентов 4, 5 и 6 курсов ГОУ ВПО УГМА на кафедрах неврологии детского возраста и неонатологии и педиатрии ФПК и ПП.

Основные результаты работы изложены в методических рекомендациях для студентов и врачей последипломной подготовки: «Методика неврологического обследования здорового доношенного новорожденного» (1999г.), «Принципы диагностики и лечения перинатальных повреждений нервной системы у детей» (2001г.).

Апробация материалов диссертации

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Всероссийском научном форуме с международным участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (2003г., 2007г.); Объединенном иммунологическом форуме (г. Екатеринбург, 2004г.); региональных конференциях по проблемам неонатологии и неврологии (г. Екатеринбург, 2003г., 2007г., 2008г.); научно-практической конференции «Актуальные вопросы вскармливания и питания детей при острых и хронических заболеваниях» (г. Екатеринбург, 2006г.); областной конференции «Нарушения энергообмена у детей» (г. Екатеринбург, 2006г.); V Российском конгрессе «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии» (г. Москва, 2006г.); Всероссийской Юбилейной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы психиатрии и неврологии» (г. Санкт-Петербург, 2007г.); Объединенном иммунологическом форуме, IV съезде иммунологов России, IX конгрессе РААКИ (г. Санкт-Петербург, 2008г.); Всероссийском III съезде детских патоморфологов (г. Санкт-Петербург, 2008 г.); а также на заседании кафедр

неврологии детского возраста и неонатологии и педиатрии ФПК и ПП ГОУ ВПО УГМА (07.03.2009, г. Екатеринбург).

Работа апробирована на заседании проблемной комиссии по педиатрии ГОУ ВПО УГМА 13 марта 2009г. Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 43 работы, из них 9 в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень, рекомендованный ВАК. Получены 2 патента на изобретение (№ 2345363, № 2345364).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 350 страницах машинописного текста, состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, приложения, библиографического списка из 310 источников (в том числе 148 зарубежных), иллюстрирована 68 таблицами и 75 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в период с 2003 по 2008 гг. на кафедре педиатрии ФПК и ПП ГОУ ВПО УГМА Росздрава, на базе отделений неонатологии № 1 и № 2 роддома МУ ГКБ № 14, отделений патологии новорожденных № 1 и 2 МУ ГКБ № 5, куда поступали дети из роддомов г. Екатеринбурга на 5-7-е сутки жизни. Катамнестическое наблюдение осуществлялось на базе роддома МУ ГКБ № 14 и отделения неврологии МУ ГКБ № 5.

В работе представлен анализ результатов динамического наблюдения, лабораторно-инструментального обследования 483 доношенных детей с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС. Исследования проводили в возрастные периоды: 1-3-и сутки, 5-7-е, 25-27-е сутки, 3-6 мес., 9-12 мес., 1год 6 мес., 2 года, 2 года 6 мес., 3 года. Группу контроля составили 60 здоровых детей.

На первом этапе наблюдения в возрасте 1-3 дня – 1 месяца у новорожденных проводили анализ анамнестических факторов риска, клинико-лабораторных данных особенностей течения заболевания.

В зависимости от тяжести гипоксического поражения ЦНС новорожденные были разделены на 3 группы: 1-ю группу составили дети с легкой степенью перинатального поражения ЦНС (n=110); 2-ю – дети с

перинатальным поражением ЦНС средней тяжести (n=199); 3-ю - с перинатальным поражением ЦНС тяжелой степени (n=174). Тяжесть течения заболевания определялась в соответствии с «Классификацией перинатальных поражений нервной системы у новорожденных» (Володин Н.Н и соавт., 2000г., 2007г.) и рекомендациями Барашнева Ю.И. (2005г.).

Критериями исключения из исследования были: наличие ВПР (множественных) и ВПР головного мозга; травматических повреждений ЦНС; врожденной эндокринной патологии; детей из двоен; недоношенных детей; новорожденных с ВУИ и гнойно-септическими заболеваниями; детей, которым проводили переливание компонентов крови до забора крови на иммунологическое исследование.

На втором этапе исследования после 25-27 дня жизни при сохранении принципа репрезентативности проведено динамическое клиническое наблюдение и комплексное обследование 248 доношенных детей, вошедших в основные группы 1 (n=72), 2 (n=97), 3 (n=79), которые получали только базисную терапию. Наблюдение осуществлялось в течение 3-х лет в регламентированные возрастные периоды.

У 197 детей выполнено сравнительное проспективное исследование с целью оценки эффективности применения информационной радиоволновой терапии (ИВТ), метаболической терапии с включением препарата Элькар и их сочетания. Из них, 102 ребенка составили группу детей с ППЦНС средней степени тяжести (группа 2А) и 95 детей - с тяжелой степенью гипоксического поражения ЦНС (группа 3А).

Группы сформированы методом случайного отбора с применением компьютерной программы - генератора случайных чисел и были сопоставимы по основным характеристикам: гестационному возрасту, полу, антропометрическим параметрам, факторам риска развития перинатальной патологии, степени тяжести, клиническим синдромам, наличию сопутствующей соматической патологии, проводимой патогенетической терапии и общему объему оказанной медицинской помощи.

Одновременно в течение 3-х лет у детей всех групп наблюдения проводили динамическую оценку результатов иммунологических, нейробиохимических, структурно-метаболических, инструментальных методов исследования. На третьем этапе по результатам проведенных исследований, с последующим применением математического метода

дискриминантного анализа, было представлено обоснование оценки степени тяжести и прогноза заболевания по стартовым показателям.

Лечение новорожденных в роддоме и в отделениях патологии новорожденных проводилось с учетом современных технологий в неонатологии, строго индивидуально, интенсивная терапия соответствовала стандартной многокомпонентной программе этиологической и посиндромной терапии.

Психомоторное развитие детей на 1-м году жизни оценивали по шкале Журбы Л.Т. и Мастиюковой Е.М., 1981г., в дальнейшем проводили тестиирование по шкалам КАТ/КЛАМС и Гриффитс.

Оценку морффункциональной зрелости новорожденных проводили с использованием шкалы Дж. Болларда (1991г.). Физическое развитие определяли по стандартам Свердловской области для детей от 0 до 16 лет (2001г., г. Екатеринбург).

Всем детям в динамике проводили НСГ с целью наблюдения за трансформацией выявленных структурных церебральных нарушений с помощью аппарата фирмы «Siemens» «Aloca 3500 plus» путем последовательного получения десяти стандартных сечений в коронарной и сагиттальной плоскостях. Ишемические морфологические изменения оценивали согласно классификации L. S. de Vries et al. (1992). В работе использовали классификацию ВЖК М. J. Levene и соавт. (1983) в модификации К.В. Ватолина.

Для объективной оценки функционального состояния органов и систем применялись: ультразвуковое исследование сердца, печени, почек, тимуса, рентгенография органов грудной клетки, брюшной полости, компьютерная томография (на аппаратах фирмы «Siemens»). По показаниям проводилась электромиография (электронейромиограф Nichon Kohden МЕВ 7102К Neuropack 2), электроэнцефалография (электроэнцефалограф Энцефалан 09, 2005г.), полисомнография (полисомнограф/видео ЭЭГ мониторинг Grass-Telefactor Comet, 2006г.), электрокардиография с использованием «Heart Minor liko», 2003г. Клинические лабораторные и биохимические исследования осуществлялись по стандартным методикам.

Иммунологические исследования проводили на базе ЦНИЛ ГОУ ВПО УГМА и ФГУН ЕМНЦ.

Анализировалась лейкоцитарная формула. Количественное определение субпопуляций лимфоцитов осуществляли методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител. Определение концентрации интерлейкинов и иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA, IgE – общие) в сыворотке крови и ликворе выполнено на тест – системах ELISA – IL-4, ELISA – IL-6, ELISA – TNFa, IL-1 β производства ООО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург, методом твердофазного ИФА.

Определение концентрации кортизола в сыворотке крови и ликворе выполнено на тест – системе HUMAN ELISA (Германия), методом ИФА. Количественное определение нейронспецифической енолазы (NSE) в сыворотке крови и ликворе проводили, используя тест UBI MAGIWEL tm NEURON SPECIFIC ENOLASE QUANTI TATIVE CM-901, основанный на принципе твердофазного иммуноферментного анализа.

Карнometрию (плоидометрию) лимфоцитов периферической крови исследовали на базе патологоанатомического отделения ФГУЗ ЦМСЧ №15 ФМБА России, г. Снежинск, Челябинской области.

Автором данной работы разработан способ оценки степени тяжести гипоксического перинатального поражения ЦНС у доношенных новорожденных с определением количественного содержания ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови (кариометрия), с использованием компьютерных микротелескопометрических автоматизированных систем, с математическим моделированием гистопатологического процесса. Получены 2 патента на изобретение № 2345363, № 2345364.

Метод карнometрии разработан на основании методологии и медицинской морфометрии, методики плоидометрии лимфоцитов, предложенной и усовершенствованной Г.Г. Автандиловым (1990г, 2002г.). Количество ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови вычислялось по плотности окрашивания ядер с построением гистограмм в относительных единицах – пикселях. В каждом препарате вычисления производились не менее чем по 25 ядрам. Число единиц наблюдения в выборках определялось по таблице Г.Г. Автандилова.

Активность дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови определяли количественным цитохимическим методом по Р. П. Нарциссову (1969г., 1997г.). Цитохимическое определение активности ферментов

энергообмена проводили наборами реактивов фирмы ООО МНПК «Химтехмаш», ГосНИИ «ИРЕА»: сукцинатдегидрогеназы (СДГ), α -глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ), глутаматдегидрогеназы (ГДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), малатдегидрогеназы МДГ) в лимфоцитах периферической крови. Использовалась визуальная модификация метода.

Статистическая обработка материала проводилась методом вариационной статистики с использованием программ Microsoft Excel. Достоверность полученных результатов оценивалась парным методом по *t*-критерию Стьюдента, также использовался непараметрический критерий Манна-Уитни и метод Фишера (различия считались достоверными при $p<0,05$). Для анализа данных применялись методы суммарных статистик, корреляционного, дискриминантного, множественного регрессионного анализа. Для построения решающего правила по предложенной выборке были использованы математические методы распознавания образов, реализованные в пакетах «STATGRAPH», «КВАЗАР», «КВАЗАР-ПЛЮС» (разработанные Институтом механики и математики УрО РАН).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинико-лабораторная характеристика доношенных детей с гипоксическим поражением ЦНС в зависимости от степени тяжести в течение 3-х лет катамнестического наблюдения

Проведенные в настоящей работе исследования подтвердили значимость перинатальных факторов риска для развития гипоксических поражений нервной системы у детей. Математическим методом дискриминантного анализа выделены существенные признаки с уровнем значимости отличий ($p<0,05$), которые включают: поздние гестозы, ХФПН, артериальную гипертензию, перенесенные ОРЗ во время беременности, слабость родовой деятельности, длительный безводный период, экстренное кесарево сечение, наличие мекониальных вод с аспирацией, обвитие пуповины, курение матери. Все выше описанные факторы риска встречались в 2-3 раза чаще у детей 2 и 3 групп, по сравнению с 1 группой и достоверно чаще в 3 группе, по сравнению со 2 группой ($p<0,05$).

Тяжесть гипоксического поражения ЦНС у детей 3 группы была сопряжена с интранатальной асфиксиею тяжелой степени (74,5%) и СДР II типа. Этим новорожденным в родильном зале проводился комплекс реанимационных мероприятий с последующей ИВЛ от 2 до 7 суток.

Согласно данным нейросонографии, в остром периоде заболевания изменения ишемического характера выявлены у 81,3% всех наблюдаемых детей, гипоксически-геморрагического – у 26,4% доношенных новорожденных. Отсутствие морфологических изменений имело место у 19,3%. У новорожденных с легкой степенью поражения ЦНС морфологические изменения преимущественно определялись в виде ишемии I степени, которые регрессировали в течение первого месяца жизни. Частота ВЖК во 2 и 3 группах была одинаковой (40,7% и 38,6%), но в группе с тяжелым поражением зарегистрировано ВЖК III степени у 4,8% больных. Вентрикуломегалия наблюдалась в 2 раза чаще в 3 группе, по сравнению с группой 2 ($p<0,05$).

Анализируя частоту клинических неврологических синдромов острого периода можно отметить, что у детей с легкой степенью гипоксии доминантным неврологическим синдромом был СПНРВ, который встречался у каждого четвертого ребенка. При среднетяжелой степени поражения ЦНС ведущими в клинике были: синдром внутричерепной гипертензии (44,2%), вегето-висцеральных нарушений (33,7%). У детей с тяжелой степенью поражения клиническая характеристика представлена в основном синдромом угнетения (55,2%), который наблюдался в 2 раза чаще, по сравнению с группой 2 ($p<0,05$) и сопровождался у 12,1% новорожденных судорогами различного характера, у 10,4% детей развитием комы.

Синдром угнетения у детей 2 и 3 групп регрессировал к 1 месяцу жизни и в дальнейшем трансформировался в синдром двигательных расстройств (47,1%) в виде проявлений мышечной гипотонии (16,8%) и пирамидной недостаточности у 1/3 всех пациентов. В этом периоде наблюдения у детей с тяжелой гипоксией в 2 раза чаще формировался гипертензионно-гидроцефальный синдром, по сравнению с группой 2 ($p<0,05$).

Ведущим синдромом в возрасте 3-6 месяцев жизни, кроме двигательных нарушений, был синдром задержки психомоторного развития, наиболее

часто встречающийся у детей с тяжелым поражением ЦНС (58,1%), в 5 раз чаще, по сравнению с группой больных со средней степенью тяжести ($p<0,05$). Гидроцефально-гипертензионный синдром зарегистрирован у 27,1% всех пациентов и демонстрировал тенденцию к компенсации и нормализации ($p<0,05$) после 6 месяцев.

Наиболее стабильным по клиническим проявлениям и жалобам в течение первого года жизни был также синдром вегето-висцеральных нарушений, который отмечался в 2 раза чаще у пациентов 3 группы, по сравнению с группой 2 ($p<0,05$).

Особенностью течения перинатального поражения ЦНС на 1-м году жизни было появление у пациентов диссомнических расстройств в возрасте 6 месяцев ($p<0,05$) и постоянство их регистрации далее у 1/3 больных на всех этапах наблюдения. У детей с легкой степенью ППЦНС вышеописанные синдромы встречались в единичных случаях.

К 1 году жизни у большинства детей 1 и 2 групп клинические синдромы регрессировали (рис. 1). Вместе с тем, у больных с тяжелой степенью поражения ЦНС, по сравнению с группой 2, отмечались в 1,5-2 раза чаще такие синдромы, как миатонический, астеноневротический, ЗПМР, а синдромы пирамидной недостаточности и нарушения сна в 4 и 2,5 раза соответственно ($p<0,05$). Эпилепсия (3,8%), гидроцефалия (6,3%), ДЦП (6,3%) наблюдались у пациентов в группе 3 (рис.1).

Исходы гипоксических поражений ЦНС у наблюдавшихся детей в возрасте 1-го года зависели от степени тяжести перенесенной перинатальной гипоксии. В 1 группе наблюдения 88,9% детей были здоровы к 12 месяцам жизни. У 11,1% выявлены функциональные нарушения в виде диссомнических нарушений и миатонического синдрома. Выздоровление наступило у половины детей со среднетяжелой степенью, а в группе 3 только у 1/3 пациентов (рис. 2).

В группе 2 и 3 функциональные нарушения по частоте не имели достоверных отличий ($p>0,05$). У больных с гипоксическим поражением ЦНС тяжелой степени РЦОН наблюдалась у каждого второго ребенка, в 4 раза чаще, чем в группе 2 ($p<0,05$). Среди функциональных нарушений доминировали проявления астеновегетативного характера, среди

органических – синдром пирамидной недостаточности и ЗПМР. В ряде наблюдений имело место сочетание нескольких неврологических синдромов.

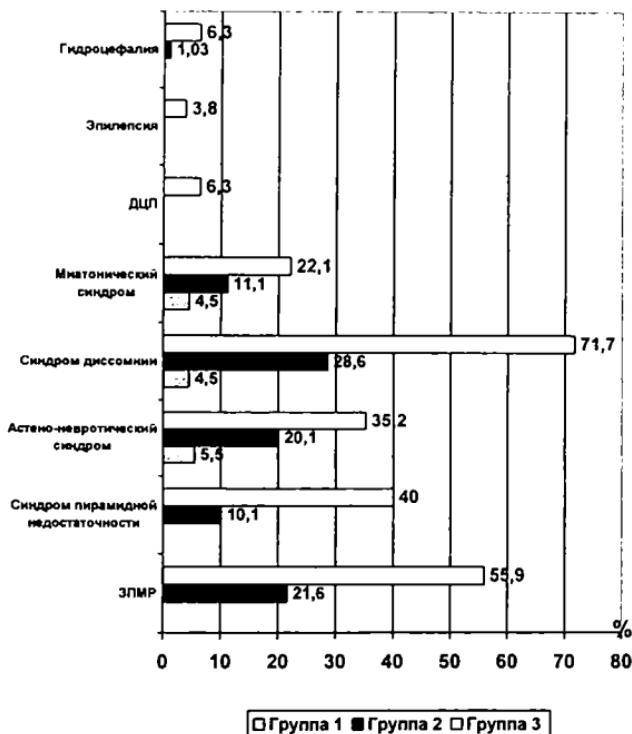


Рис. 1. Частота неврологических синдромов у доношенных детей с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС в зависимости от степени тяжести в возрасте 1 года (%)

У 11,4% детей с тяжелым поражением ЦНС сформировалась инвалидность, которая включала следующую патологию: ДЦП (6,3%), эпилепсию (3,8%), окклюзионную гидроцефалию (1,3%).

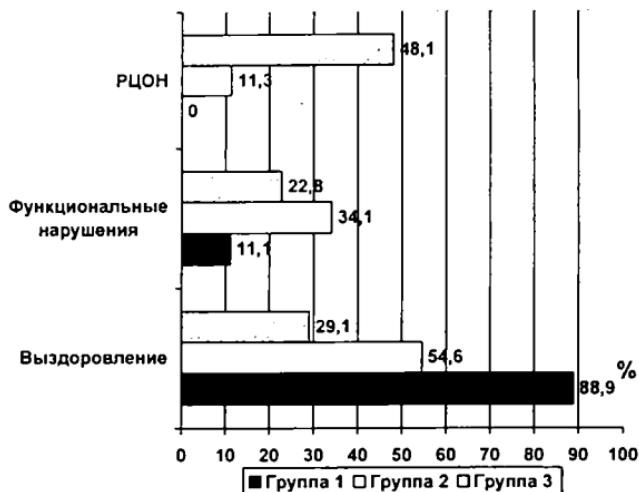


Рис. 2. Структура исходов перинатального гипоксического поражения ЦНС в зависимости от степени тяжести у доношенных детей в возрасте 1 года

Основными структурными повреждениями головного мозга в возрасте 1 года по данным нейровизуализации в группах наблюдения были расширение МПЩ у 26,2% детей, вентрикуломегалия у 23,8% и только у детей группы 3 диагностированы ПВЛ (6,3%), субкортикальная лейкомалия (3,8%), атрофия коры (3,8%). Формирование таких тяжелых морфологических последствий, как ПВЛ, субкортикальная лейкомалия было сопряжено с острой гипоксией в родах, развитием СДР II типа на фоне признаков незрелости головного мозга ($r=0,78$).

В возрасте 3-х лет характер неврологических синдромов в группах наблюдения существенно не отличался от клинической симптоматики в предыдущем возрасте. Вместе с тем, неврологические проявления в виде расстройства вегетативной нервной системы, ЗПМР с нарушением речевого развития наблюдались соответственно в 2 и 5 раз реже в группе 2, по сравнению с группой тяжелых больных ($p<0,05$). В этом возрасте у 39,2% пациентов всех групп наблюдения диагностированы гипердинамические расстройства детства с дефицитом концентрации внимания.

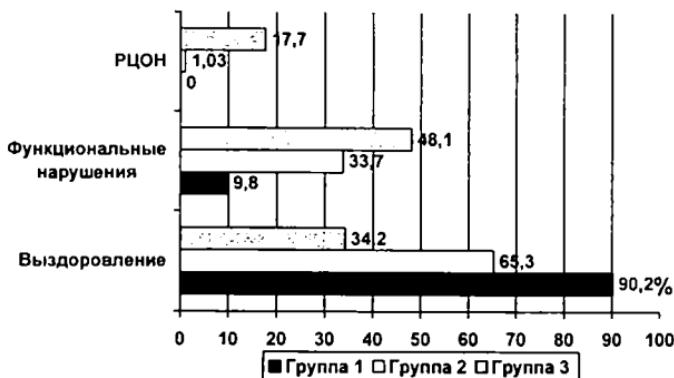


Рис. 3. Структура исходов перинатального гипоксического поражения ЦНС в зависимости от степени тяжести у доношенных детей в возрасте 3 лет

Из рисунков 2 и 3 следует, что на фоне проводимых реабилитационных мероприятий в 3 группе в 2,7 раза уменьшилось число больных с РЦОН и соответственно увеличилось число детей с функциональными нарушениями (48,1%). В группе 1 органические поражения ЦНС зарегистрированы не были, а у 1,03% детей 2 группы диагностированы в виде гидроцефалии. Характер органических поражений и число детей сформировавших инвалидность (11,4%) в группе с тяжелым поражением ЦНС не отличались от предыдущего возрастного периода. Благоприятный исход с полным выздоровлением имели 90,2% детей с легкой степенью гипоксии, в группе 2 – 65,3% и в группе 3 – 34,2% пациентов.

Сравнительный анализ физического развития детей к 3-х летнему возрасту показал, что число детей с нормальным физическим развитием зарегистрировано в группе 1 и 2 (94%, 74,3%), по сравнению с 3 группой (66%). У 15,2% детей с тяжелым гипоксическим поражением ЦНС отмечались нарушения питания в виде гипотрофии I-II степени. Большинство детей 1 и 2 групп (85,5% и 66,3%) находились на естественном вскармливании, и только 35,2% пациентов в группе с тяжелым поражением ЦНС.

Наряду с неврологическими расстройствами, у больных зарегистрировано формирование соматической патологии. В структуре заболеваемости в общей

группе наблюдения в возрасте 3-х лет доминировала инфекционная патология верхних и нижних дыхательных путей в виде ОРВИ (21,1%), бронхита (4,7%), ЛОР заболеваний (11,4%), атопического дерматита (12,5%), синдрома раздраженного кишечника. Нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта наблюдались у детей 3 группы (23,1%) в 3,8 раза чаще, а ОРВИ (35,1%) в 1,5 раза, по сравнению со 2 группой (6,5% и 20,1%, соответственно) ($p<0,05$) (рис. 4-5).

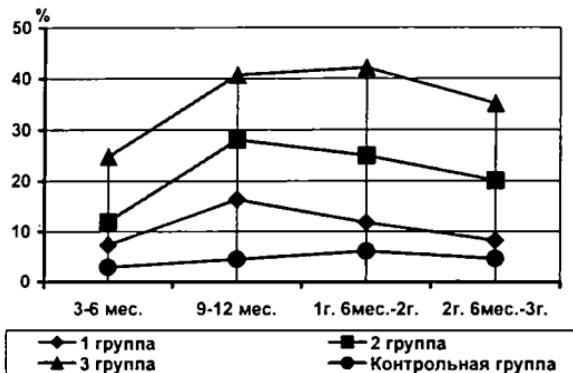


Рис. 4. Частота регистрации ОРВИ у детей с гипоксическим поражением ЦНС в зависимости от степени тяжести в течение 3-х лет жизни

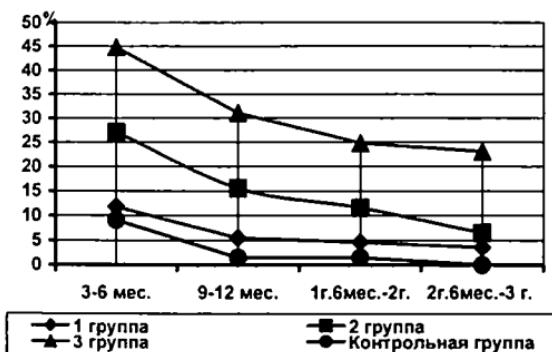


Рис. 5. Частота выявления синдрома раздраженного кишечника у наблюдавшихся детей в зависимости от степени тяжести гипоксического поражения ЦНС в течение 3-х лет

В раннем возрасте в первую группу здоровья вошли 90,1% детей 1 группы, 56,3% - группы 2 и 33,8% детей, перенесших перинатальную гипоксию ЦНС тяжелой степени.

Динамика иммунологических показателей у детей с гипоксическим поражением ЦНС в зависимости от степени тяжести

При анализе иммунологических показателей в остром периоде заболевания у детей с различной степенью тяжести гипоксического поражения ЦНС выявлены общие закономерности развития иммунного ответа, характеризующиеся моноцитозом, увеличением количества цитотоксических CD8+ лимфоцитов, уровня ИЛ-1 β и ИЛ-4 в сыворотке крови. При этом у новорожденных 1 группы отмечались иммунологические отклонения адаптивного характера с увеличением количества субпопуляций лимфоцитов CD3+, CD4+, CD20+ (табл. 1, 2).

Таблица 1
Показатели иммунного профиля детей исследуемых групп
в возрасте 1-3 дня ($M \pm m$)

Показатели	1 группа n=50	2 группа n=50	3 группа n=50	Контроль ная группа n=50	Достоверность различий, p
	1	2	3	4	
I	II	III	IV	V	VI
Ил 1 β (пг/мл)	13,3 \pm 0,87	50,8 \pm 2,8	80,9 \pm 6,7	10,2 \pm 1,9	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4 $<$ 0,001
Ил 4 (пг/мл)	56,4 \pm 2,8	159,6 \pm 7,8	185,0 \pm 9,4	28,4 \pm 2,1	1:2, 1:3, 1:4, 2:4, 3:4 $<$ 0,001 2:3 $<$ 0,04
Ил 6 (пг/мл)	15,4 \pm 1,8	19,1 \pm 1,5	26,1 \pm 0,9	18,2 \pm 1,9	1:3, 2:3, 3:4 $<$ 0,001
ФНО- α (пг/мл)	15,1 \pm 1,6	90,5 \pm 5,4	159,2 \pm 7,1	14,2 \pm 1,8	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4 $<$ 0,001
Лейкоциты \times 10 9 /л	15,7 \pm 0,69	16,1 \pm 0,62	15,6 \pm 0,71	15,5 \pm 0,64	>0,05
Нейтрофилы \times 10 9 /л	10,7 \pm 0,19	10,9 \pm 0,15	10,5 \pm 0,18	11,1 \pm 0,24	>0,05
Моноциты \times 10 9 /л	0,7 \pm 0,01	0,8 \pm 0,09	0,8 \pm 0,08	0,6 \pm 0,03	1:4, 2:4, 3:4 $<$ 0,05
Лимфоциты \times 10 9 /л	4,25 \pm 0,28	4,28 \pm 0,21	4,19 \pm 0,38	3,8 \pm 0,35	>0,05
CD3 \times 10 9 /л	3,4 \pm 0,15	3,3 \pm 0,09	2,9 \pm 0,12	3,2 \pm 0,15	2:3 $<$ 0,009
CD16 \times 10 9 /л	0,16 \pm 0,03	0,19 \pm 0,06	0,32 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	1:3, 3:4 $<$ 0,001 2:3 $<$ 0,05

Продолжение таблицы 1

I	II	III	IV	V	VI
CD20×10 ⁹ /л	0,48±0,06	0,43±0,11	0,22±0,09	0,25±0,08	1,4<0,042
CD4×10 ⁹ /л	2,2±0,12	2,0±0,11	1,7±0,11	2,1±0,09	1,3<0,001 3,4<0,05
CD8×10 ⁹ /л	1,2±0,09	1,3±0,04	1,2±0,07	1,1±0,08	2,4<0,05
CD4+/ CD8+	1,8±0,09	1,5±0,08	1,4±0,09	1,9±0,13	1,2, 1,3, 2,4, 3,4 <0,001
CD25×10 ⁹ /л	0,09±0,01	0,15±0,02	0,31±0,02	0,08±0,01	1,2, 1,3, 2,3, 2,4, 3,4<0,001
CD95×10 ⁹ /л	0,08±0,01	0,21±0,02	0,41±0,07	0,06±0,01	1,2, 1,3, 2,3, 2,4, 3,4<0,001

* В таблицу включены иммунологические показатели, имеющие значимые отличия между группами по данным дискриминантного анализа.

У детей, с гипоксическим поражением ЦНС средней тяжести, к 5-7 дню жизни формирование компенсаторно-адаптивных иммунных реакций имеет высокий уровень «напряжения» цитокин-индуцированных реакций с увеличением концентрации ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-4, количества субпопуляций лимфоцитов CD8+, CD3+, CD4+, CD20+, CD25+, естественных киллерных клеток CD16+, маркеров Fas-индуцированного апоптоза CD95+, моноцитоза ($p<0,001$). У новорожденных с тяжелым гипоксическим поражением ЦНС, как у детей 2 группы, отмечается активация аналогичного ряда клеточных субпопуляций лимфоцитов, за исключением CD3+, CD4+, CD20+, при высоких концентрациях ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-6 в сыворотке крови и ликворе ($p<0,001$) (табл. 2).

В первые 7 дней в группах наблюдения 2 и 3 отмечались высокие уровни ФНО- α в сыворотке крови, в 6, 9 раз превышающие ($p<0,001$) нормативные значения, в то время, как в группе 1, достоверных отличий не наблюдалось ($p>0,05$) (табл. 2).

В остром периоде заболевания, в ходе формирования иммунного ответа, определяется снижение концентрации IgG в сыворотке крови у детей 3 группы, нулевые значения IgA и повышение IgM во всех группах наблюдения. В возрасте 1 месяца происходит переключение синтеза IgM на IgG, с увеличением концентрации последних ($p<0,05$).

Таблица 2

Показатели иммунного профиля детей исследуемых групп
в возрасте 5-7 дней ($M \pm m$)

Показатели	1 группа n=50	2 группа n=50	3 группа n=50	Контроль- ная группа n=50	Достоверность различий, р
	1	2	3	4	
Ил 1 β (пг/мл)	18,2 \pm 1,1	59,8 \pm 2,1	86,5 \pm 4,8	14,0 \pm 0,81	1:2, 1:3, 1:4, 2:3 2:4, 3:4 $<$ 0,001
Ил 4 (пг/мл)	60,8 \pm 4,8	189,6 \pm 9,8	245,6 \pm 10,1	38,9 \pm 2,4	1:2, 1:3, 1:4, 2:3 2:4, 3:4 $<$ 0,001
Ил 6 (пг/мл)	16,7 \pm 2,1	22,2 \pm 1,99	38,4 \pm 2,2	20,0 \pm 2,3	1:3, 2:3, 3:4 $<$ 0,001
ФНО- α (пг/мл)	18,1 \pm 0,69	114,0 \pm 10,2	175,2 \pm 9,8	18,5 \pm 0,56	1:2, 1:3, 2:3 2:4, 3:4 $<$ 0,001
Лейкоциты $\times 10^9$ /л	11,1 \pm 0,65	11,8 \pm 0,57	10,4 \pm 0,59	10,3 \pm 0,58	$>$ 0,05
Нейтрофилы $\times 10^9$ /л	5,1 \pm 0,19	4,8 \pm 0,12	5,0 \pm 0,18	5,1 \pm 0,14	$>$ 0,05
Моноциты $\times 10^9$ /л	0,7 \pm 0,09	0,9 \pm 0,09	0,88 \pm 0,08	0,7 \pm 0,04	2:4 $<$ 0,038 3:4 $<$ 0,021
Лимфоциты $\times 10^9$ /л	4,9 \pm 0,35	5,8 \pm 0,32	4,4 \pm 0,31	4,3 \pm 0,38	2:3, 2:4 $<$ 0,01
CD3 $\times 10^9$ /л	3,9 \pm 0,11	4,4 \pm 0,18	2,8 \pm 0,16	3,4 \pm 0,19	1:2, 1:4, 3:4 $<$ 0,05 1:3, 2:3, 2:4 $<$ 0,001
CD16 $\times 10^9$ /л	0,15 \pm 0,02	0,25 \pm 0,03	0,38 \pm 0,02	0,12 \pm 0,02	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4 $<$ 0,001
CD20 $\times 10^9$ /л	0,57 \pm 0,06	0,7 \pm 0,09	0,31 \pm 0,09	0,35 \pm 0,08	1:3, 1:4 $<$ 0,05 2:3 $<$ 0,003 2:4 $<$ 0,001
CD4 $\times 10^9$ /л	3,0 \pm 0,12	3,3 \pm 0,11	1,5 \pm 0,11	2,6 \pm 0,09	1:3, 1:4, 2:3, 2:4, 3:4 $<$ 0,001
CD8 $\times 10^9$ /л	0,9 \pm 0,01	1,1 \pm 0,03	1,3 \pm 0,05	0,8 \pm 0,04	1:3, 1:4, 1:2, 2:3, 2:4, 3:4 $<$ 0,001
CD4+/ CD8+	3,3 \pm 0,01	3,3 \pm 0,08	1,2 \pm 0,05	3,25 \pm 0,03	1:3, 2:3, 3:4 $<$ 0,001
CD25 $\times 10^9$ /л	0,12 \pm 0,02	0,21 \pm 0,02	0,35 \pm 0,02	0,15 \pm 0,01	1:2, 1:3, 2:4, 3:4 $<$ 0,001 2:3 $<$ 0,015
CD95 $\times 10^9$ /л	0,11 \pm 0,04	0,31 \pm 0,02	0,51 \pm 0,03	0,11 \pm 0,01	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4 $<$ 0,001

* В таблицу включены иммунологические показатели, имеющие значимые различия между группами по данным дискриминантного анализа.

Проведенный анализ иммунологических показателей, в возрасте 25-27 дней жизни, выявил у детей с легкой степенью гипоксии тенденцию к нормализации клеточного и гуморального иммунитета. В этом периоде наблюдения у детей 2 группы сохраняется достаточно высокий резерв функционирования иммунной системы: показатели интерлейкинов ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-4 имели тенденцию к

снижению, уменьшилось количество лимфоцитов CD20+ на фоне повышения CD3+, CD4+, CD25+, CD95+. У больных с тяжелой гипоксией, в отличие от 1 и 2 групп, наблюдались процессы «иммунологической декомпенсации» с дефицитом лимфоцитов CD8+, CD20+, CD3+, CD4+, моноцитов (табл. 3).

Таблица 3

Показатели иммунного профиля детей исследуемых групп в возрасте 1 месяц
(M±m)

Показатели	1 группа n=50	2 группа n=50	3 группа n=50	Контрольн ая группа n=50	Достоверность различий, p
	1	2	3	4	
Ил 1 β (пг/мл)	11,0±0,91	39,8±1,2	80,6±2,4	10,1±0,5	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4 <0,001
Ил 4 (пг/мл)	40,2±2,4	55,1±5,8	90,1±6,8	34,0±2,2	1:3, 2:3, 2:4, 3:4 <0,001
Ил 6 (пг/мл)	23,1±1,9	19,9±1,8	22,2±1,9	24,0±1,5	1:2 <0,02
ФНО- α (пг/мл)	14,6±0,81	75,8±4,3	138,2±5,8	17,4±1,2	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4 <0,001
Лейкоциты $\times 10^9/\text{л}$	10,2±0,24	10,3±0,21	9,4±0,41	10,4±0,3	>0,05
Нейтрофилы $\times 10^9/\text{л}$	3,2±0,21	3,1±0,21	2,8±0,15	3,1±0,18	>0,05
Моноциты $\times 10^9/\text{л}$	0,6±0,09	0,6±0,12	0,5±0,01	0,6±0,01	3:4 <0,001
Лимфоциты $\times 10^9/\text{л}$	6,1±0,29	6,42±0,21	5,8±0,22	6,5±0,21	3:4 <0,015
CD3 $\times 10^9/\text{л}$	4,1±0,15	4,3±0,14	3,4±0,11	4,2±0,12	1:3, 2:3, 3:4 <0,05
CD16 $\times 10^9/\text{л}$	0,4±0,06	0,51±0,09	0,64±0,06	0,41±0,09	1:3, 3:4 <0,001
CD20 $\times 10^9/\text{л}$	1,4±0,09	0,89±0,11	0,65±0,09	1,7±0,18	1:2 <0,032 1:3, 2:4, 3:4 <0,001
CD4 $\times 10^9/\text{л}$	2,8±0,09	3,3±0,11	2,5±0,09	2,9±0,09	1:2, 2:3, 2:4 <0,001 1:3 <0,02 3:4 <0,05
CD8 $\times 10^9/\text{л}$	1,3±0,11	1,1±0,09	0,9±0,11	1,3±0,09	1:3 <0,012 3:4 <0,006
CD4+/CD8+	2,2±0,11	3,3±0,08	2,8±0,11	2,2±0,09	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4 <0,001
CD25 $\times 10^9/\text{л}$	0,11±0,03	0,31±0,01	0,41±0,01	0,11±0,02	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4 <0,001
CD95 $\times 10^9/\text{л}$	0,11±0,05	0,41±0,09	0,71±0,08	0,085±0,01	1:2 <0,004 2:4 <0,021 1:3, 2:3, 3:4 <0,001

* В таблицу включены иммунологические показатели, имеющие значимые отличия между группами по данным дискриминантного анализа.

Согласно полученным данным, в течение неонатального периода сохраняются высокие уровни ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-4 в крови, увеличение количества лимфоцитов CD25+, CD95+, CD16+ в группах 2 и 3, по сравнению с группами 1 и контролем ($p<0,001$), что указывает на прогредиентное течение патологического процесса.

Изменения концентрации ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-4, наблюдавшиеся в неонатальном периоде в группах 2 и 3, имели стойкий характер и достигали уровня возрастных нормативных значений после 6 месяцев ($p<0,05$). У детей с тяжелым гипоксическим поражением ЦНС нормализация уровня ФНО- α наблюдалась только после 1 года, что создает предпосылки для формирования органической церебральной патологии у данной группы больных.

У новорожденных 3 группы в остром периоде заболевания уровень ИЛ-6 в сыворотке крови был достоверно выше, по сравнению с показателями здоровых детей. Выявлены корреляционные прямые связи между уровнем ИЛ-6 и параметрами лимфоцитов CD8+ ($r=0,73$), CD16+ ($r=0,67$) и концентрацией НСЕ ($r=0,84$) ($p<0,05$). При церебральной гипоксии легкой и среднетяжелой степени данная закономерность не наблюдалась ($p>0,05$). К концу неонатального периода содержание ИЛ-6 в крови новорожденных 1, 2, 3 групп было сопоставимо с показателями у здоровых детей. Повышение содержания ИЛ-6 в крови у детей с тяжелым гипоксическим поражением ЦНС подтверждает данные о его нейротрофическом, нейропротективном эффекте и участии в регуляции процессов апоптоза. Вместе с тем, неблагоприятным прогностическим признаком в неонатальном периоде, указывающим на высокий риск формирования органического поражения ЦНС, является снижение концентрации ИЛ-6 в крови и ликворе (табл. 4, 5).

Результаты исследования показали, что у новорожденных с тяжелым гипоксическим поражением ЦНС в остром периоде заболевания между содержанием цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-4) в крови и ликворе наблюдались прямые корреляционные связи, которые ассоциировались с массивностью патологического процесса, повреждением структур мозга в виде ишемии III степени и ВЖК II-III степени с последующим развитием

гидроцефалии, ПВЛ, кистозной дегенерации, атрофии мозга ($p<0,05$) и формированием органического поражения ЦНС ($r=0,84$, $r=0,89$, $r=0,78$) (табл. 4, 5 и рис. 6).

Таблица 4

Динамика уровней цитокинов в СМЖ у доношенных детей в зависимости от формирования органического поражения ЦНС

Группы/возраст			Показатели (пг/мл)			
			ИЛ-1 β	ФНО- α	ИЛ-4	ИЛ-6
С органическими поражениями (С) (n=32)	3-7 сутки	1	99,2±2,9	131,8±2,1	150,1±7,1	12,3±1,5
	21-28 сутки	2	12,3±0,19	21,1±3,12	60,1±5,8	10,2±1,4
Без органических поражений (Б) (n=35)	3-7 сутки	1	35,6±2,4	58,1±3,4	200,1±6,9	20,2±1,6
	21-28 сутки	2	24,9±0,11	39,8±2,9	69,6±6,2	30,1±1,1
Достоверность различий, $p<0,001$			Б1:С1, Б2:С2, Б1:Б 2, С1:С2,	Б1:С1, Б2:С2, Б1:Б 2, С1:С2,	Б1:С1, Б1:Б 2, С1:С2,	Б1:С1, Б2:С2, Б1:Б 2,

Снижение концентрации ИЛ-1 β и ФНО- α в ликворе и повышение в сыворотке крови к 21-28 дню жизни, свидетельствует о незавершенности патологического процесса, тяжелом течении заболевания с формированием органического поражения ЦНС ($r=-0,87$; $r=-0,81$) (рис. 7).

Повышение уровня противовоспалительного ИЛ-4, по-видимому, играет роль в уравновешивании провоспалительного каскада, ограничении последующего повреждения тканей и отражает существование баланса про- и противовоспалительных цитокинов.

Таблица 5

Показатели иммунного профиля в сыворотке крови у доношенных детей в зависимости от формирования органического поражения ЦНС

Группы	Возраст (сутки)	№	Показатели								
			ИЛ-1 β (пг/мл)	ИЛ-4 (пг/мл)	ИЛ-6 (пг/мл)	ФНО- α (пг/мл)	Мононуклеозы ($\times 10^9/\mu\text{l}$)	CD16 $^{+}$ ($\times 10^9/\mu\text{l}$)	CD95 $^{+}$ ($\times 10^9/\mu\text{l}$)	CD25 $^{+}$ ($\times 10^9/\mu\text{l}$)	
I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	
Без органических поражений (n=35)	1-3	1	109,4 ±0,39	220,5 ±1,5	24,1± 1,1	144,8 ±13,4	0,67 ±0,01	0,32± 0,13	0,2 ±0,05	0,16 ±0,03	
	5-7	2	82,2 ±0,6	179,8 ±1,2	30,1± 1,5	140,2 ±1,1	0,78± 0,09	0,39± 0,09	0,26 ±0,06	0,21 ±0,03	
	21-28	3	80,9 ±0,5	80,6 ±0,9	23,1± 1,9	137,5 ±1,1	0,62± 0,011	0,54± 0,013	0,3 ±0,04	0,33 ±0,01	

Продолжение таблицы 5

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
С органическими поражениями (n=32)	1-3	4	88,5 ±0,8	271,3 ±1,4	5,9 ±0,91	168,9 ±1,3	0,74± 0,01	0,43± 0,01	0,41 ±0,01	0,38 ±0,03
	5-7	5	93,8 ±0,6	100,7 ±1,2	6,4 ±0,95	180,6 ±1,3	0,91± 0,01	0,64± 0,011	0,52 ±0,01	0,42 ±0,02
	21-28	6	98,99 ±0,6	40,7 ±0,8	15,8 ±1,8	189,1 ±0,83	0,49± 0,01	0,78± 0,01	0,85 ±0,08	0,48 ±0,01
Контрольная группа (n=50)	1-3	7	10,2 ±1,9	28,4 ±2,1	18,2 ±1,9	14,2 ±1,8	0,61 ±0,03	0,15 ±0,01	0,06 ±0,01	0,08 ±0,01
	5-7	8	14,1 ±0,81	38,9 ±2,4	20,1 ±2,3	18,5 ±0,56	0,7 ±0,04	0,12 ±0,02	0,11 ±0,01	0,15 ±0,01
	21-28	9	10,1 ±0,5	34,1 ±2,2	24,1 ±1,5	17,4 ±1,2	0,61 ±0,01	0,41 ±0,09	0,085 ±0,01	0,11 ±0,02
Достоверность различий, p<0,001			1:4, 2:5, 3:6, 1:7, 2:8, 3:9, 4:7, 5:8, 6:9	1:4, 2:5, 3:6, 1:7, 2:8, 6:9	2:5, 3:6, 1:7, 3:6, 2:8, 6:9	1:4, 3:6, 1:7, 3:6, 2:8, 6:9	2:5< 0,01; 3:6, 1:7, 2:8, 6:9	1:4, 2:5, 3:6, 1:7, 2:8, 6:9	1:4, 2:5, 3:6, 1:7, 2:8, 6:9	

Повышение концентрации НСЕ, маркера повреждения клеточных мембран нейронов, отмечалось в сыворотке крови у новорожденных 2 и 3 групп ($p<0,05$). Показатели нормализовались к 1 году у больных с поражением ЦНС средней степени тяжести и оставались высокими в 3 группе ($p<0,05$). У детей с легкой степенью достоверных отличий от показателей здоровых младенцев не было (табл. 6).

Формирование органического поражения ЦНС в неонатальном периоде сопровождалось повышением уровня НСЕ в крови и ликворе ($r=0,91$, $r=0,74$) ($p<0,05$) (табл. 6, 7 рис. 6 и 7).

Таблица 6

Средние значения уровня НСЕ в крови (мкг/л) в зависимости от степени тяжести гипоксического поражения ЦНС

Возраст		Группа 1 (n=50)	Группа 2 (n=50)	Группа 3 (n=50)	Группа контроля (n=50)	Достоверность отличий, p<0,001
		1	2	3	4	
1-3 дня	а	18,46±0,05	34,19±0,11	71,6±2,86	18,5±0,05	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4
5-7 дней	б	18,97±0,11	44,97±0,17	70,82±2,9	18,81±0,05	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4
1 мес.	в	15,85±0,05	46,62±0,35	60,7±2,78	15,91±0,04	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4
3-6 мес.	г	14,03±0,05	29,72±0,08	41,49±1,42	14,02±0,04	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4
1 год	д	12,41±0,05	20,78±0,21	32,75±1,32	12,48±0,05	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4
Достоверность отличий, p	<0,05	<0,05	а, г, а.д, б.г, б.д, в.д, г.д	<0,05		

Таблица 7

Динамика концентрации НСЕ в СМЖ у наблюдавшихся детей в неонатальном периоде с органическими и без органических поражений ЦНС

Возраст	НСЕ, мкг/л		Достоверность различий, p
	Без органических поражений, (n=35) M ± m	С органическими поражениями, (n=32) M ± m	
3 – 7 дней	2,3±0,1	202,1±12,2	<0,001
21-28-й день	2,4±0,2	100,1±10,5	<0,001
Достоверность различий, p	>0,05	<0,001	

В условиях тяжелой гипоксии цитокины оказывают стимулирующее и подавляющее влияние на продукцию гормональных медиаторов, в том числе кортизола. В остром периоде заболевания между концентрацией ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6 и уровнем кортизола в обеих средах существуют обратные корреляционные связи ($r=-0,85$; $r=-0,79$; $r=-0,67$; $p<0,05$) (рис. 8).

У детей с тяжелым поражением ЦНС определялось значительное увеличение кортизола в крови и ликворе ($p<0,001$) в первые трое суток, снижение к 5-7 дню ($p<0,05$) и сохранение низких значений в течение 3-6 месяцев. Показатели кортизола у новорожденных 1 группы нормализовались к 1 месяцу, а во 2 группе превышали нормативные значения с восстановлением к первому полугодию жизни (табл. 8).

Таблица 8

Средние значения уровня кортизола в крови (нмоль/л) у детей в зависимости от степени тяжести гипоксического поражения ЦНС

Возраст	Обозначения	Группа 1 (n=50)	Группа 2 (n=50)	Группа 3 (n=50)	Группа контроля (n=50)	Достоверность отличий, p<0,001
		1	2	3	4	
1-3 дня	а	486,3±2,88	647,8±2,46	1100±19,52	303,8±8,52	1:2, 1:3, 1:4, 2:3, 2:4, 3:4
5-7 дней	б	275,2±1,3	128,3±2,66	86,25±9,15	275,6±1,18	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4
14 дней	в	266,4±1,09	194,0±5,29	127,6±1,58	267,8±2,96	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4
1 мес.	г	224,5±5,9	336,5±5,58	109,1±2,48	239,4±7,8	1:2, 1:3, 2:3, 2:4, 3:4
3-6 мес.	д	231,1±7,04	238,0±6,54	230,5±5,82	232,5±6,7	>0,05
Достоверность отличий, p<0,001	а:б, а:в, а:г, а:д, б:в, б:г, б:д, в:г, в:д, г:д	а:б, а:в, а:г, а:д, б:в, б:г, б:д, в:г, в:д, г:д	а:б, а:в, а:г, а:д, б:в, б:д, в:г, в:д, г:д, б:г-<0,018	а:б, а:в, а:г, а:д, б:г, б:д, в:г, в:д; б:в-<0,016		

У больных с гипоксическим поражением ЦНС тяжелой степени уровень кортизола в СМЖ в остром периоде заболевания и в конце неонатального периода не имел достоверных отличий от аналогичных показателей в сыворотке крови ($p>0,05$).

Наличие представленных корреляционных связей между продукцией кортизола и уровнем цитокинов в крови и ликворе указывает на связующее звено цитокиновой регуляторной сети в механизмах реализации нейроиммunoэндокринного модулирования и деструктивных процессов при церебральной гипоксии у новорожденных (рис. 8).

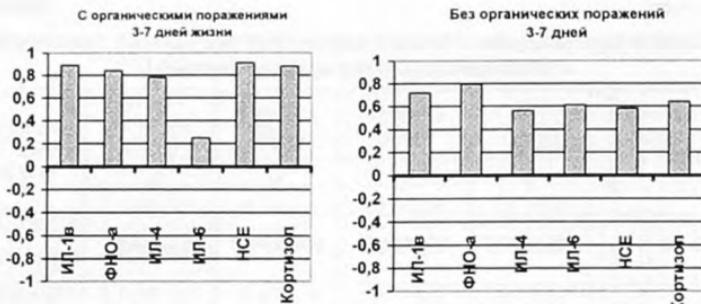


Рис.6. Корреляционные связи между концентрацией цитокинов, НСЕ, кортизола в сыворотке крови и ликворе у детей с органическими и без органических поражений ЦНС гипоксического генеза (3-7 сутки)



Рис.7. Корреляционные связи между концентрацией цитокинов, НСЕ, кортизола в сыворотке крови и ликворе у детей с органическими и без органических поражений ЦНС гипоксического генеза (21-28 сутки)



Рис.8. Корреляционные связи между концентрацией цитокинов, НСЕ и кортизолом в крови и ликворе у детей с гипоксическим перинатальным поражением ЦНС тяжелой степени в остром периоде заболевания

Поздний восстановительный период характеризовался общей тенденцией к нормализации клеточного и гуморального звена иммунитета. Лимфоцитопения за счет субпопуляций CD4+, CD20+, CD25+, увеличение CD8+, CD16+, CD95+, снижение содержания IgA, IgG отмечались в основном у больных 3 группы, что, по-видимому, связано с формированием вторичной иммунной недостаточности и объясняет более частую заболеваемость ОРЗ, наличие ЛОР-патологии, нарушение роста микрофлоры кишечника, по сравнению с детьми группы контроля ($p<0,05$). Вместе с тем, у пациентов со среднетяжелой степенью поражения ЦНС также наблюдалось снижение лимфоцитов CD20+, дисиммуноглобулинемия со снижением концентрации IgA в течение первого полугодия жизни. Иммунологические показатели у детей 1 группы соответствовали возрастным нормативным значениям на всех этапах катамнестического наблюдения.

Исследование иммунологического профиля у детей с тяжелым поражением ЦНС в динамике на 2-3 году жизни констатирует формирование вторичной иммунной недостаточности с лимфоцитопенией CD20+, CD4+, CD25+, увеличением количества цитотоксических клеток CD8+, снижением IgG и IgA и повышением IgE у часто болеющих детей с аллергическим синдромом ($p<0,05$).

Количественное определение ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови у новорожденных с гипоксическим поражением ЦНС

Для оценки степени гипоксии нами модифицирован метод кариометрии (плоидометрии) лимфоцитов: количественное определение ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови по оптической плотности (чувствительность метода – 89%, специфичность – 96%). Обследовано 195 доношенных новорожденных в течение 1 года. Из них 150 детей с различной степенью тяжести гипоксического поражения ЦНС. Контрольную группу составили 50 здоровых детей.

Опытным путем установлено, что среднее количественное значение ДНК в ядрах лимфоцитов исследуемых популяций определяет степень тяжести гипоксического поражения центральной нервной системы у

новорожденных в 1-3 сутки и в течение 1-го месяца жизни, а также имеет прогностическое значение.

Результаты кариометрии лимфоцитов констатировали, что показатели оптической плотности ядер лимфоцитов периферической крови новорожденных являются маркерами степени тяжести церебральных нарушений. Для легкой степени тяжести показатели кариометрии составили $3054 \pm 50,1$ отн. ед., для средней - $2106 \pm 18,7$ отн. ед., для тяжелой - $924 \pm 14,1$ отн. ед., в группе контроля - 3000-3050 отн. ед. У детей 1 группы в первые 3 дня количество ДНК в ядрах лимфоцитов достоверно не отличалось от показателей здоровых новорожденных ($p > 0,05$), на 5-7 сутки жизни отмечалось увеличение ($p < 0,001$) и нормализация показателей к 28 дню жизни (рис. 9).

У новорожденных групп 2 и 3 в первые трое суток определялось снижение ($p < 0,001$) среднего количества ДНК в ядрах лимфоцитов в 2-3 раза, по сравнению с группой здоровых детей. У больных с формированием органического поражения ЦНС показатели кариометрии были достоверно низкими в остром и раннем восстановительном периодах, по сравнению с детьми без органического поражения нервной системы ($p < 0,001$). Восстановление показателей наблюдалось после первого полугодия жизни (рис. 9).

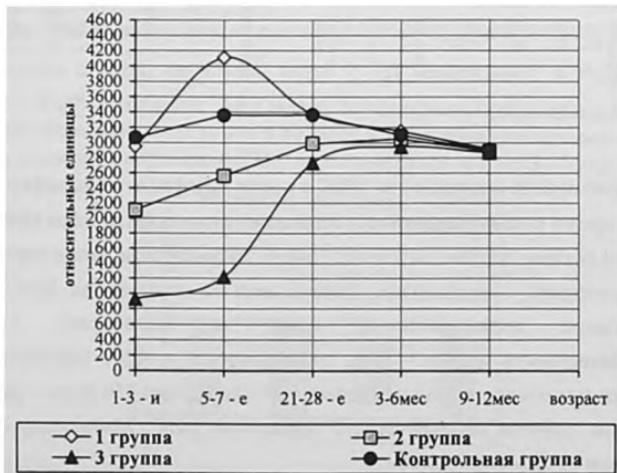


Рис. 9. Динамика средних величин оптической плотности ядер лимфоцитов в зависимости от степени тяжести гипоксического поражения центральной нервной системы у детей

По - видимому, повреждение ядер клеток с нарушением репликации ДНК в результате окислительного стресса, можно рассматривать одним из пусковых механизмов апоптоза при тяжелом гипоксическом поражении ЦНС.

Проведенный корреляционный анализ выявил наличие сильной обратной связи между уровнем ФНО- α , ИЛ-1 β и параметрами кариометрии ($r = -0,84$, $r = -0,76$). Количество ДНК в ядрах лимфоцитов коррелировало с показателями активности митохондриальных ферментов СДГ и α -ГФДГ ($r=0,67$, $r=0,69$).

Установлено, что снижение цитохимической активности указанных ферментов в лимфоцитах периферической крови соответствует снижению количества ДНК в ядрах лимфоцитов. Недостаточность энергообеспечения иммунокомпетентных клеток, по-видимому, лимитирует восстановление их функций. Не исключено, что цитокины, обладающие высокой биологической активностью, оказывают регулирующее влияние на процессы репарации и повреждения ДНК иммунокомпетентных клеток и включают механизмы формирования иммунологической недостаточности. Возможно, опосредованное цитокинами и нарушением энергообмена количественное снижение ДНК в ядрах лимфоцитов в условиях гипоксии, сопровождается нарушением трансформации пролимфоцитов в полноценные лимфоциты, которые участвуют в иммунных реакциях и процессах клеточного энергетического метаболизма центральной нервной системы.

Анализ показателей цитохимической активности ферментов в лимфоцитах периферической крови у детей с ППЦНС гипоксического генеза в зависимости от степени тяжести

Анализируя показатели активности клеточного энергообмена, установлено, что в остром периоде заболевания (1-3 сутки жизни) независимо от степени тяжести гипоксии, у новорожденных отмечалось повышение СДГ и α -ГФДГ, ЛДГ и ГДГ, что указывает на активацию аэробного и анаэробного путей превращения глюкозы и обеспечивает динамическое равновесие окислительно-восстановительных реакций, протекающих в лимфоцитах ($p < 0,001$). У новорожденных с легкой степенью

гипоксического поражения ЦНС наблюдалось восстановление показателей клеточного энергообмена в течение неонатального периода, за исключением а-ГФДГ и ГДГ, которые были сопоставимыми с параметрами здоровых детей после 6 месяцев жизни ($p>0,05$).

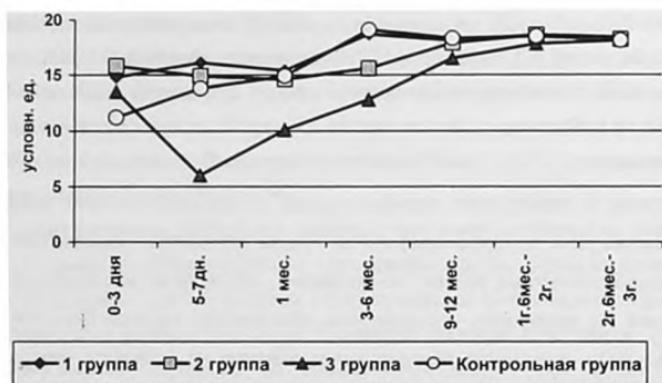


Рис. 10. Динамика цитохимического анализа активности митохондриального фермента СДГ в лимфоцитах детей с перинатальным поражением ЦНС гипоксического генеза

В течение 1 месяца жизни у детей с гипоксией средней тяжести наблюдалось постепенное снижение активности клеточных ферментов СДГ, а-ГФДГ, ЛДГ и увеличение МДГ и ГДГ с нормализацией показателей к 1 году жизни (рис. 10-12).

У доношенных детей 3 группы с тяжелой интранатальной гипоксией, на фоне ИВЛ и СДР (5-7 сутки жизни) наблюдалось снижение активности СДГ, а-ГФДГ, ЛДГ ($p<0,001$) с «депрессией» клеточного энергообмена на фоне лимфоцитопении к концу первого месяца жизни ($r=0,92$, $r=0,84$, $r=0,71$).

Возможно, это отражает угнетение аэробного и анаэробного путей метаболизма и является для клетки энергетической «катастрофой».

Не исключено, что повышение активности МДГ и ГДГ в условиях гипоксии свидетельствовало о компенсаторной «попытке» активизировать функционирование других путей метаболизма ($p<0,001$). На следующих этапах исследования в течение первого года у детей 3 группы состояние энергообмена

характеризовалось дефицитом активности митохондриальных ферментов СДГ, α -ГФДГ и повышением ГДГ.

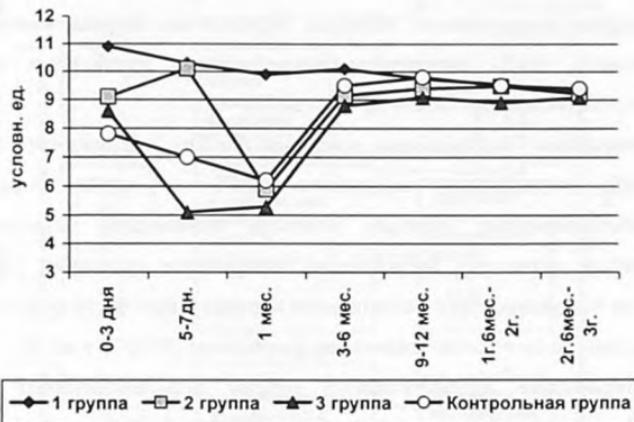


Рис. 11. Динамика цитохимического анализа активности митохондриального фермента α -ГФДГ в лимфоцитах детей с перинатальным поражением ЦНС гипоксического генеза

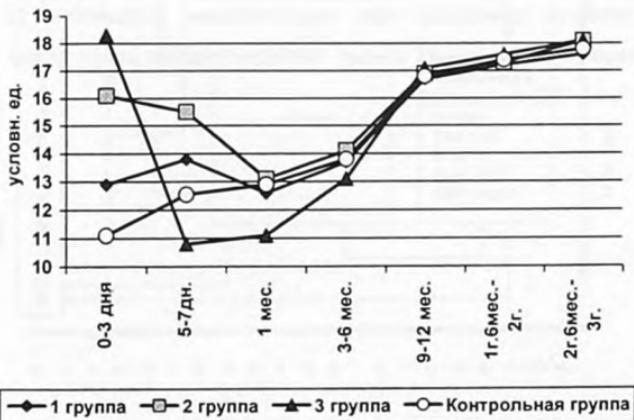


Рис. 12. Динамика цитохимического анализа активности клеточного фермента ЛДГ в лимфоцитах детей с перинатальным поражением ЦНС гипоксического генеза

Стабилизация активности клеточных ферментов у больных с тяжелой перинатальной гипоксией отмечалась на втором году жизни. У детей, перенесших перинатальную гипоксию, определялась корреляционная прямая взаимосвязь между нарушением энергетического метаболизма клеток и снижением уровня кортизола в крови ($r=0,78$).

Результаты исследования иммунологических, цитокин-гормональных реакций, определения количества ДНК в ядрах лимфоцитов, нейробиохимических маркеров апоптоза, показателей цитохимической активности ферментов энергообмена лимфоцитов позволили установить наличие их взаимосвязи в неонатальном периоде и прогностическое значение в зависимости от степени тяжести гипоксического ППЦНС у детей.

Применение математического метода дискриминантного анализа, определение парных и множественных корреляций вышеописанных результатов исследований, стало основанием для определения значимых информативных признаков неонатального периода и механизмов формирования адаптационно-компенсаторных реакций, патологических деструктивных процессов при гипоксическом поражении ЦНС, что позволило представить их в виде патогенетических графических моделей (рис. 13, 14, 15).

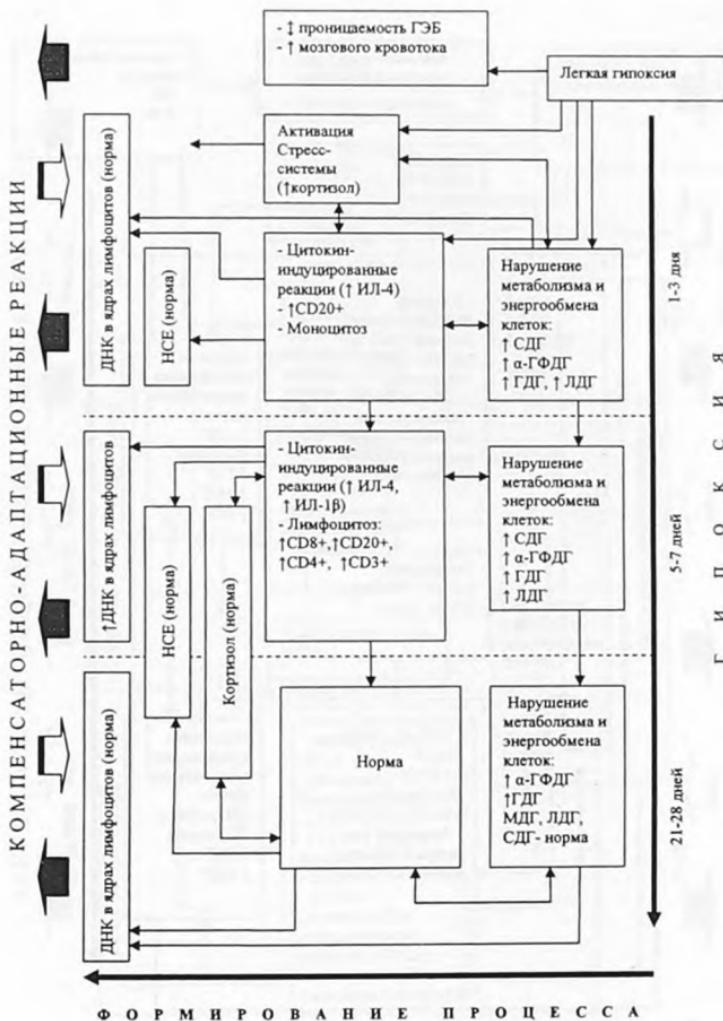


Рис. 13. Патогенетическая модель формирования компенсаторно-адаптационных процессов в неонатальном периоде у детей с гипоксическим поражением ЦНС легкой степени

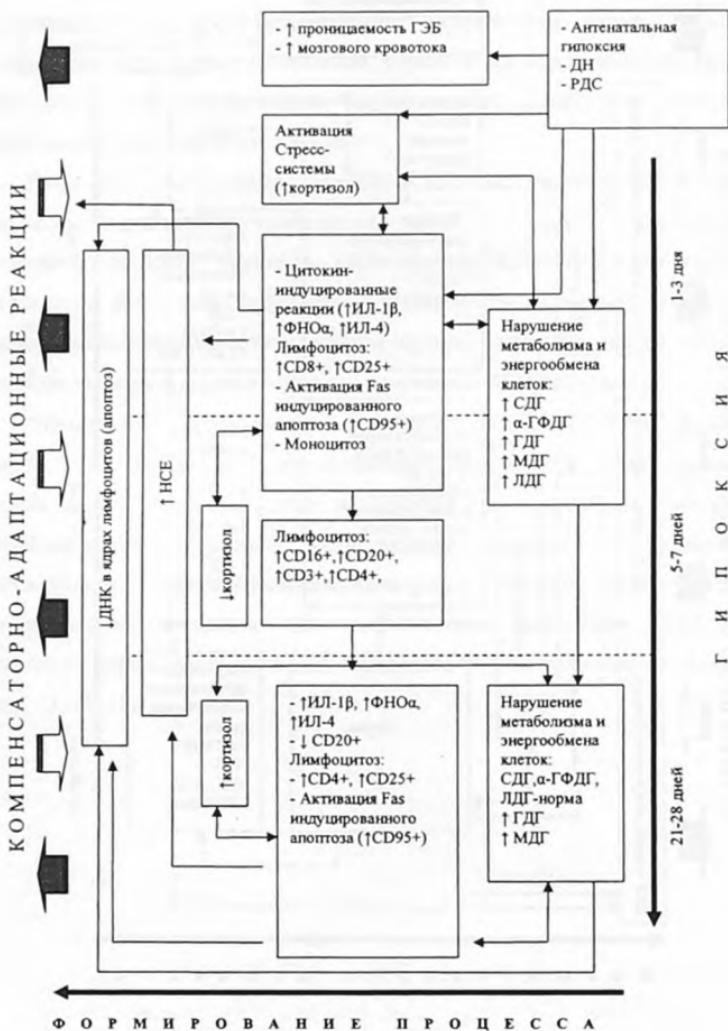


Рис. 14. Патогенетическая модель формирования компенсаторно-адаптационных процессов в неонатальном периоде у детей с гипоксическим поражением ЦНС средней степени тяжести

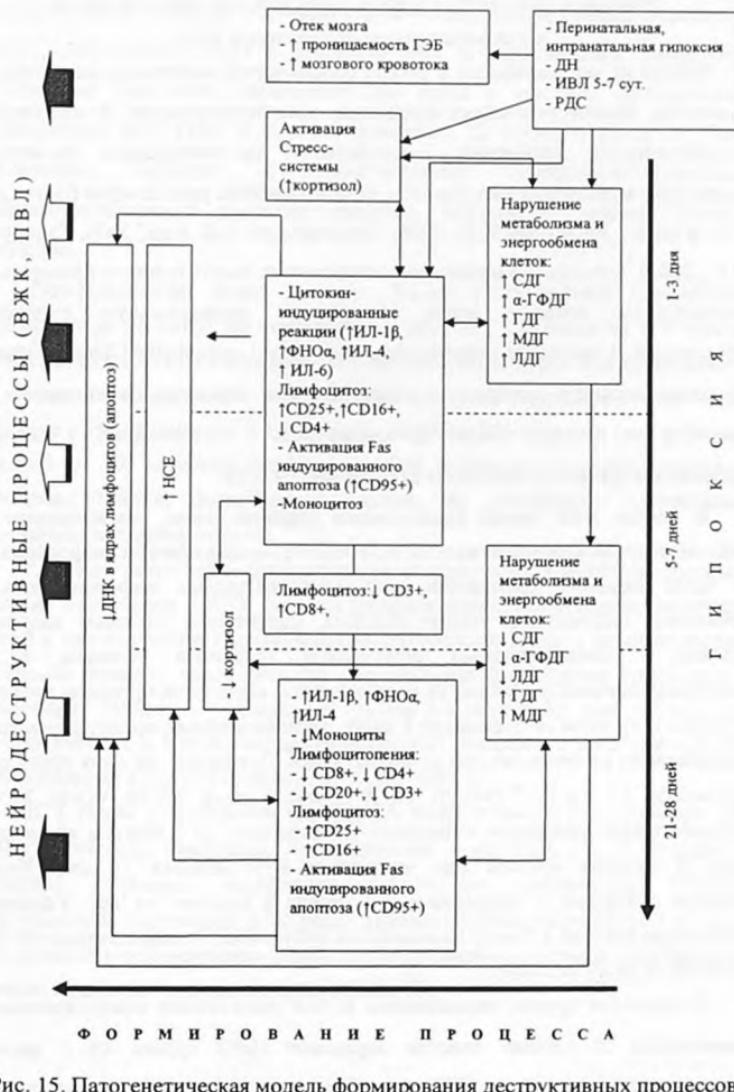


Рис. 15. Патогенетическая модель формирования деструктивных процессов в ЦНС в неонатальном периоде у детей с гипоксическим поражением тяжелой степени

**Клинико-лабораторная оценка эффективности применения препарата
Элькар в сочетании с ИВТ в комплексном лечении детей
с гипоксическим поражением ЦНС**

Исходя из установленных в работе особенностей клеточного метаболизма, снижения биоэнергетических процессов, иммунологических и структурно-метаболических нарушений, представляется целесообразным проведение коррекции выявленных нарушений. Согласно мнению ряда авторов (Николаева Е.А. и соавт., 2005; Брин И.Л., 2006; Царегородцев А.Д. и др., 2006; Сухоруков В.С., 2008), применение метаболически активных энерготропных препаратов в комплексном лечении детей, перенесших перинатальную гипоксию, обосновано. В частности, показано использование L-карнитина (Левокарнитин), функции которого связаны с метаболизмом глюкозы, аминокислот, с транспортом жирных кислот из цитоплазмы в митохондрии, в которой происходит процесс β -окисления с образованием АТФ.

В основе ИВТ лежит биологически обратная связь, реализованная во взаимодействии электромагнитных излучений в миллиметровом, инфракрасном и части видимого диапазонов волн, модулированных информационными сигналами инфразвуковых частот (0,03Гц), идентичных сигналам здоровых органов с биологическими структурами организма человека, с их информационными сигналами на молекулярном, клеточном, органном уровнях. Уровень излучения не превышает 1 мкВт. Терапевтический эффект обусловлен воздействием на биологически активные точки. Ежедневно, на одну процедуру применяли 4-5 зон БАТ (VG-20, TR-19 справа и слева, VG-16, VG-14, VC-8). Воздействовали аппаратом «Минитаг» («Камертон») по 3 минуты на каждую зону. В процессе лечения зоны чередовали. Курс лечения -10 дней. Курсы лечения повторяли с перерывами в 2 месяца в течение 3-х лет. Указанная технология внесена в Реестр медицинских технологий Росздравнадзора № ФС-2006/381-У от 29.12.2006г.

В основные группы исследования вошли доношенные новорожденные в зависимости от степени тяжести поражения ЦНС: группа 2А – дети с гипоксическим поражением ЦНС средней степени тяжести (n=102), группа 3А – дети с тяжелым поражением (n=97). Группа 2А была разделена на 3 подгруппы:

2A(б+Э) n=34, в которой дети со 2-й недели жизни получали кроме базисной терапии препарат Элькар; 2A(б+ИВТ) n=34 – в дополнение к базисной терапии – ИВТ; 2A(б+Э+ИВТ) n=34 – сочетание этих методов лечения. Аналогично составлены подгруппы наблюдения для детей с тяжелым гипоксическим поражением ЦНС (3A). В группы сравнения 2Б (n=36) и 3Б (n=36) были включены пациенты с сопоставимыми клинико-лабораторными характеристиками и данными анамнеза, получавшие только базисную терапию.

Новорожденным детям препарат Элькар (20% раствор L-карнитина) назначали за 30 минут до кормления в дозе 50-75 мг/кг/сутки в 2 приема, длительность 1-го курса не менее 1-1,5 месяцев. Затем курсы повторяли каждые 2 месяца в течение 3-х лет. Средняя доза препарата составляла в возрасте 1-6 месяцев – 75-150 мг/сутки, 6-12 месяцев - от 150 до 225 мг/сутки, 1 год – 3 года – от 200 до 300 мг/сутки. Базисная терапия включала: кавинтон, ноотропил, пантогам, глицин, биопрепараты, массаж, по показаниям - мочегонные препараты, антиконвульсанты.

Согласно результатам сравнительного исследования, применение препарата Элькар в сочетании с ИВТ является наиболее оптимальным вариантом лечения детей с гипоксическим поражением ЦНС. В возрасте 1 года у детей со средней степенью тяжести патологические неврологические синдромы отмечались в единичных случаях, а у пациентов группы 3A реже в 3,5 раза наблюдались миатонический, в 3 раза - астеноневротический синдромы и в 4,5 раза - ЗПМР, чем у больных в группах сравнения ($p<0,05$) (табл. 9).

К 3 годам у пациентов группы 2A были полностью купированы все неврологические синдромы, по сравнению с группой 2Б. У больных с тяжелой степенью поражения значительно уменьшилась частота двигательных нарушений, в 3,5 раза - диссомнических расстройств и в 5 раз – отклонений в психоречевом развитии, по сравнению с детьми, получавшими только базисную терапию ($p<0,001$) (табл. 10).

Таблица 9

Характеристика неврологических синдромов в группах сравнения с учетом проводимой терапии (возраст 1 год), %

Неврологические синдромы	Группы детей				Достоверность различий, р	
	Получавших базисную терапию и препарат Элькар+ИВТ		Получавших базисную терапию			
	2А группа n=34	3А группа n=32	2Б группа n=36	3Б группа n=36		
Синдром двигательных нарушений: Пирамидная недостаточность	0	6,3	10,1	40,2	2А:2Б >0,05 3А:3Б <0,003	
	0	6,3	11,1	22,1	2А:2Б <0,05 3А:3Б >0,05	
Миотонический синдром						
Астеноневротический синдром	2,9	11,7	20,1	35,2	2А:2Б <0,05 3А:3Б <0,05	
Синдром нарушения сна	2,9	32,3	28,6	71,7	2А:2Б <0,009 3А:3Б <0,003	
Синдром задержки психоречевого развития	0	10,5	14,1	48,5	2А:2Б <0,05 3А:3Б <0,002	
Задержка статикомоторного развития	2,9	12,5	21,6	55,9	2А:2Б <0,05 3А:3Б <0,004	

Таблица 10

Характеристика неврологических синдромов в группах сравнения с учетом проводимой терапии (возраст 3 года), %

Неврологические синдромы	Группы детей				Достоверность различий, р	
	Получавших базисную терапию и препарат Элькар+ИВТ		Получавших базисную терапию			
	2А группа n=34	3А группа n=32	2Б группа n=36	3Б группа n=36		
Синдром двигательных нарушений: Пирамидная недостаточность	0	3,1	4,1	20,1	2А:2Б >0,05 3А:3Б <0,05	
	0	0	5,6	12,6	2А:2Б >0,05 3А:3Б <0,05	
Миотонический синдром						
Астеноневротический синдром	0	3,1	13,9	25	2А:2Б <0,05 3А:3Б <0,028	
Синдром нарушения сна	2,9	9,4	20,6	30,3	2А:2Б <0,05 3А:3Б <0,05	
Синдром задержки психоречевого развития	0	6,3	8,5	33,1	2А:2Б >0,05 3А:3Б <0,015	
Задержка психомоторного развития	0	9,4	6,1	26,2	2А:2Б >0,05 3А:3Б >0,05	

На фоне предлагаемого метода лечения, отчетливо прослеживалась нормализация морфологических отклонений по данным НСГ и МРТ головного мозга. Применение ИВТ в комбинации с препаратом Элькар в составе комплексной терапии детей с перинатальной патологией позволило снизить к 3 годам частоту соматических заболеваний в 2,4 раза, по сравнению с группами больных, получавших только базисную терапию (12,2% сравнить с 29, 4%) ($p<0,05$).

Согласно полученным данным, применение препарата Элькар в сочетании с ИВТ у детей с гипоксическим поражением ЦНС средней и тяжелой степени способствует восстановлению иммунологических показателей до возрастной нормы, повышает уровень активности клеточных ферментов, количество ДНК в ядрах лимфоцитов к 3-6 месяцам жизни. В группах сравнения у пациентов, получавших базисную терапию, указанные показатели только после первого года соответствовали уровню здоровых детей ($p<0,05$) (табл. 11, рис. 16 - 18).

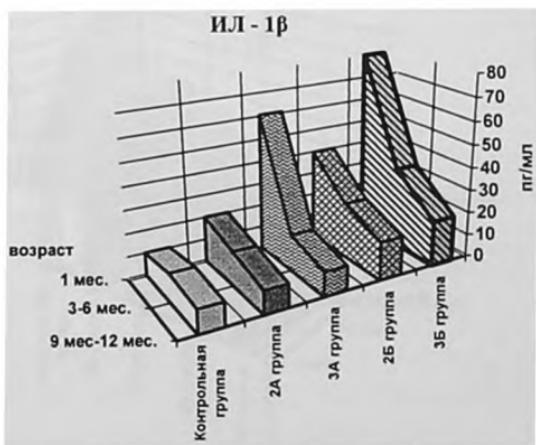


Рис. 16. Динамика иммунологических показателей на фоне лечения препаратом Элькар в сочетании с ИВТ и в группах сравнения

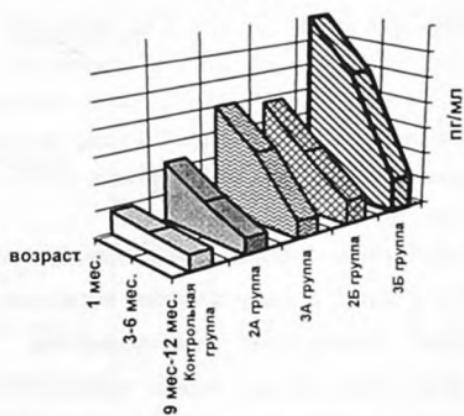
ФНО- α 

Рис. 17. Динамика иммунологических показателей на фоне лечения препаратом Элькар в сочетании с ИВТ и в группах сравнения

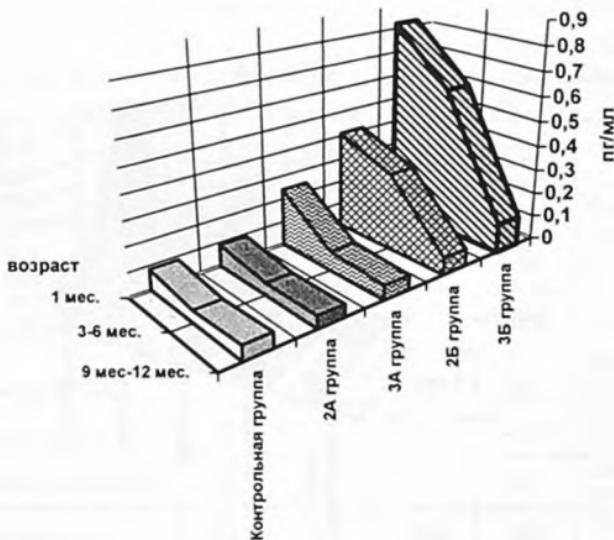
CD-95+ ($10^9/\text{л}$)

Рис. 18. Динамика иммунологических показателей на фоне лечения препаратом Элькар в сочетании с ИВТ и в группах сравнения

Таблица 11

Характеристика показателей кариометрии у доношенных детей с гипоксическим поражением ЦНС с учетом проводимой терапии (отн. ед.)

Сроки наблюдения	Группы детей					Достоверность различий, $p < 0$
	Получавших базисную терапию + Элькар и ИВТ		Получавших базисную терапию		Контрольная группа $n=50$	
	2A группа $n=34$	3A группа $n=32$	2B группа $n=36$	3B группа $n=36$		
	1	2	3	4	5	
1 мес.	3510±23,1	3320±26,1	2900±22,4	2736±26,9	3365±27,3	1:3, 2:4, 1:5, 3:5, 4:5 $p < 0,001$
3-6 мес.	3270±36,1	3200±33,1	3050±32,1	2950±31,4	3100±38,6	1:3, 2:4 $p < 0,001$; 1:5 $p < 0,003$; 4:5 $p < 0,006$
12 мес.	2980±28,1	3005±25,3	2890±30,8	2870±26,8	2900±24,8	1:3 $p < 0,035$; 2:4 $p < 0,001$; 1:5 $p < 0,038$; 2:5 $p < 0,006$

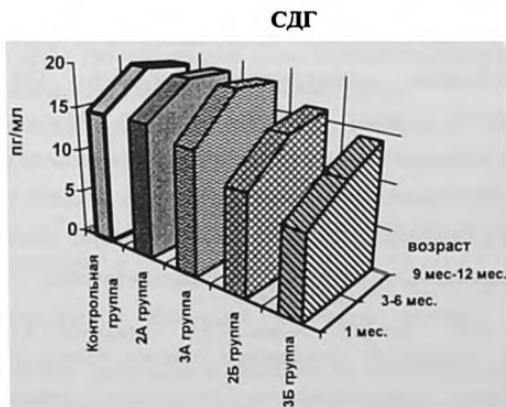


Рис. 19. Показатели ферментов клеточного энергообмена на фоне лечения препаратом Элькар в сочетании с ИВТ и в группах сравнения

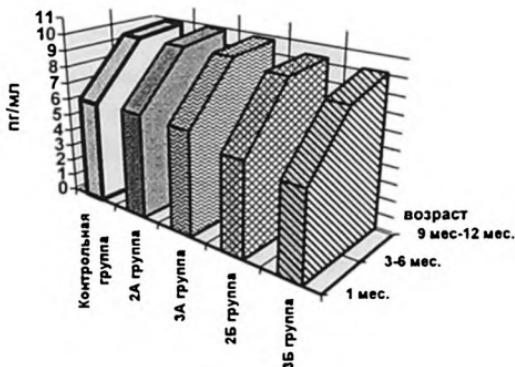
α-ГФДГ

Рис. 20. Показатели ферментов клеточного энергообмена на фоне лечения препаратом Элькар в сочетании с ИВТ и в группах сравнения

Проведенное динамическое сопоставление неврологического, соматического статуса, иммунологических показателей, ферментативной активности лимфоцитов, количественного содержания ДНК в ядрах иммунокомпетентных клеток, свидетельствует о преимущественном положительном влиянии предлагаемого метода лечения детей с гипоксическим поражением ЦНС различной степени тяжести (табл. 11 и рис. 19, 20). Разработанный метод лечения способствует восстановлению клеточной энергетики, улучшает нейродинамические процессы, предупреждает развитие вторичной иммунной и митохондриальной недостаточности, модулирует цитокиновые реакции, блокирует процессы апоптоза, улучшает функциональную активность транспортных и ферментативных систем.

Алгоритм оценки степени тяжести состояния с применением математического метода дискриминантного анализа

В процессе дискриминантного анализа разработан алгоритм решающего правила классификации (или прогноза состояния), определена сравнительная информативность каждого признака и вероятность прогноза по совокупности признаков.

Всего проанализировано 160 параметров, при этом определены значимые отличия между группами наблюдения по 19 клинико-анамнестическим показателям и 29 иммунологическим, нейробиохимическим, показателям активности ферментов клеточного энергообмена и кариометрии.

Алгоритм (решающее правило классификации) отнесения каждого ребенка к той или другой группе степени тяжести имеет следующий вид:

$$Dm = \sum K_i \times X_i + \text{const},$$

где $m = 1, 2, 3, 4$ (группы), т.е. $D1, D2, D3$; K_i - весовые коэффициенты правила классификации, X_i - значения показателей, Σ - знак суммирования, Dm - дискриминантная (разделяющая) функция для каждой группы,

Если $D1 < 0, D2 < 0, D3 > 0$, то ребенок относится к группе 1.

Если $D1 > 0, D2 > 0, D3 > 0$, то ребенок относится к группе 2.

Если $D1 > 0, D2 > 0, D3 < 0$, то ребенок относится к группе 3.

Если $D1 < 0, D2 < 0, D3 < 0$, то ребенок относится к группе контроля (здоровые дети). Рассчитываются также координаты центров группирования на дискриминантной плоскости по каждой группе.

Разработанное правило позволяет определить степень тяжести гипоксического поражения ЦНС и принадлежность каждого пациента к той или иной группе по значениям стартовых признаков (данные в 1-3 день → прогноз на 5-7 день и т.д.) на всех этапах наблюдения и прогнозировать исход заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Клинические проявления острого периода, динамика неврологических синдромов у доношенных детей определяются степенью тяжести перинатального гипоксического поражения ЦНС: у новорожденных при легкой степени поражения в остром периоде заболевания наибольшую частоту имеет синдром возбуждения (25,5%); при гипоксии средней степени тяжести доминируют гипертензионный синдром (44,2%) и вегето-

висцеральные нарушения (33,7%); у больных с тяжелой степенью поражения ведущими были синдромы угнетения (55,2%), вегето-висцеральных нарушений (35,9%), на фоне которых регистрировались у 12,1% детей судорожный синдром и у 10,4% - церебральная кома.

2. Формирование исходов заболевания к 12 месяцам жизни зависит от степени тяжести гипоксического поражения ЦНС: у 88,9% детей с легкой степенью наблюдалось выздоровление, функциональные нарушения - у 11,1%. Среди пациентов со средней степенью тяжести выздоровление отмечалось у 54,6%, функциональные нарушения - у 24,1% и органические последствия - у 11,3% детей. У больных при тяжелой степени перенесенной гипоксии выздоровление наступило у 1/3 детей (29,1%), функциональные нарушения составили 22,8%, органические - 48,1%. Функциональные расстройства у всех наблюдаемых детей были представлены симптомами дисфункции вегетативной нервной системы и диссомнией. В структуре неблагоприятных исходов церебральная органическая недостаточность отмечалась в 2,5 раза чаще при тяжелой гипоксии, по сравнению со среднетяжелой в виде сочетания синдромов двигательных нарушений, задержки психомоторного развития, сомнологических расстройств.

3. Среди детей, перенесших ППЦНС, к третьему году жизни выздоровление наступило у 90,2% пациентов с легкой степенью гипоксии и у 65,3% больных со средней тяжестью поражения. Наиболее неблагоприятными в плане прогноза оказались дети с тяжелой перинатальной гипоксией. Их отличает низкий процент выздоровления - 34,2%, формирование органических поражений ЦНС у 17,7% и инвалидности - в 11,4% случаев, которая включает ДЦП (6,3%), эпилепсию (3,8%), окклюзионную гидроцефалию (1,3%).

4. Совокупность иммунологических, нейробиохимических и структурно-метаболических нарушений в остром периоде заболевания у детей с легкой степенью поражения формирует модель развития компенсаторно-адаптивных механизмов физиологического характера с

увеличением концентрации ИЛ-4, ИЛ-1 β , лимфоцитозом за счет субпопуляций CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, повышением активности клеточных ферментов СДГ, α -ГФДГ, ГДГ, ЛДГ, концентрации кортизола, нарастанием количества ДНК в ядрах лимфоцитов при нормальных значениях НСЕ. Данные показатели восстанавливались до уровня контрольной группы к 1 месяцу жизни, за исключением α -ГФДГ и ГДГ, которые были сопоставимы с параметрами здоровых детей после 6 месяцев жизни.

5. У доношенных детей при поражении ЦНС гипоксического генеза средней степени тяжести в остром периоде механизмы компенсаторно-адаптационных реакций имеют высокий уровень «напряжения» цитокин-индуцированных и гормональных реакций с повышением концентрации ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-4, уровня кортизола в сыворотке крови, моноцитов, лимфоцитов за счет субпопуляций CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD25+, CD16+ с активацией Fas-индуцированного апоптоза (CD95+), нарастанием активности всех клеточных ферментов, концентрации НСЕ при снижении количества ДНК в ядрах лимфоцитов. Нормализация показателей у большинства пациентов этой группы наблюдения отмечалась к первому полугодию жизни.

6. У больных с тяжелой гипоксией в остром периоде заболевания модель формирования патологического процесса в ЦНС характеризуется высокими показателями цитокинов ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6 в крови и ликворе, увеличением количества субпопуляций CD8+, CD16+, CD95+ лимфоцитов, нарастанием концентрации НСЕ, снижением уровня кортизола в сыворотке крови и содержания ДНК в ядрах лимфоцитов. В течение неонatalного периода развивается состояние иммунного дистресс-синдрома с моноцитопенией, лимфоцитопенией CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, низкими показателями кариометрии, уровня кортизола на фоне «депрессии» клеточного энергообмена (СДГ, ЛДГ, α -ГФДГ) и повышением активности митохондриальных ферментов МДГ и ГДГ. Иммунологические, структурно-

метаболические и нейробиохимические нарушения сохраняются длительно, на протяжении 12 месяцев жизни и составляют патогенетическую основу для формирования последствий болезни.

7. Определение количественного содержания ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови (кариометрия) является маркером степени тяжести гипоксического поражения ЦНС и прогноза заболевания по стартовым параметрам. При легкой степени показатели кариометрии составляли $3054 \pm 50,1$ отн. ед. с последующей нормализацией к 1 месяцу жизни; при средней - $2106 \pm 18,7$ отн. ед. с восстановлением показателей к первому полугодию жизни. Церебральные гипоксические нарушения тяжелой степени сопряжены с низким содержанием ДНК в ядрах лимфоцитов ($924 \pm 14,1$ отн. ед.) и достигали нормативных значений только к 12 месяцам жизни.

8. Степень и продолжительность иммунологических и структурно-метаболических нарушений коррелирует с тяжестью гипоксического поражения ЦНС. В течение 3-х лет наблюдения у доношенных детей с легкой степенью гипоксии полностью восстановились показатели иммунного и метаболического статуса. При среднетяжелой степени отмечалось восстановление до нормы показателей клеточного иммунитета и энергообмена с сохранением дисиммуноглобулинемии IgA, IgG. У больных с тяжелым процессом в ЦНС формировалась вторичная иммунная и митохондриальная недостаточность с дефицитом субпопуляций лимфоцитов CD4+, CD20+, CD25+, снижением уровня IgA, IgG, активности ферментов клеточного энергообмена СДГ и α -ГФДГ. Снижение частоты соматических заболеваний и регресс функциональных нарушений ЦНС наступали к 3-му году жизни.

9. Применение препарата Элькар в сочетании с ИВТ в составе комплексной терапии перинатальных поражений ЦНС у детей со средней степенью тяжести позволило полностью купировать все неврологические синдромы к 3 году жизни, а у больных с тяжелой степенью поражения способствовало значительному снижению частоты двигательных нарушений,

в 3,5 раза - диссомнических расстройств и в 5 раз – отклонений в психоречевом развитии, по сравнению с детьми, получавшими только базисную терапию. Разработанный метод лечения восстанавливает энергетический метаболизм клеток, нормализует иммунологические показатели, предупреждает развитие митохондриальной недостаточности, обладает иммуно- и нейромодулирующим эффектом.

10. Информативными стартовыми признаками, позволяющими прогнозировать с чувствительностью 86,1% и специфичностью 95,4%, формирование органического поражения ЦНС у доношенных детей в остром периоде заболевания являются: длительность безводного периода (более 12 часов), слабость родовой деятельности, экстренность кесарева сечения, наличие ишемии III степени и ВЖК III степени, продолжительность ИВЛ более 7 дней, повышение уровня интерлейкинов ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-4, концентрации НСЕ, кортизола в крови и ликворе, увеличение количества субпопуляций лимфоцитов CD95+, CD16+, моноцитопения, снижение количества CD8+, CD20+, активности ферментов СДГ, α -ГФДГ, ЛДГ, низкие параметры кариометрии, по сравнению с показателями здоровых детей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В отделениях реанимации, интенсивной терапии и патологии новорожденных рекомендуется применять метод кариометрии для объективизации церебральных и структурно-метаболических нарушений.

2. При оценке состояния детей периода новорожденности и при прогнозировании исходов заболевания в течение 3-х лет жизни целесообразно учитывать совокупность информативных клинико-анамнестических, иммунологических, нейробиохимических показателей с параметрами ферментативного статуса клеток и содержанием ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови, на основании которых рекомендуется использовать решающее правило прогноза заболевания.

3. Для определения группы риска по формированию органического поражения ЦНС педиатры, неонатологи, неврологи могут использовать

стартовые информативные диагностические и прогностические критерии: наличие длительного безводного периода (более 12 часов), слабости родовой деятельности, экстренного кесарева сечения, ишемии III степени и ВЖК III степени, длительность ИВЛ более 7 дней, повышение уровня интерлейкинов ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-4, концентрации НСЕ, кортизола в крови и ликворе, увеличение количества субпопуляций лимфоцитов CD95+, CD16+, лимфоцитопению со снижением CD8+, CD20+, моноцитопению, низкие показатели кариометрии, снижение активности ферментов СДГ, α -ГФДГ, ЛДГ, по сравнению с показателями здоровых детей.

4. Новорожденным детям группы риска по развитию неврологической патологии с целью более благоприятного исхода заболевания, предупреждения вторичной иммунной и митохондриальной недостаточности рекомендуется включать в комплекс лечебно-профилактических мероприятий препарат Элькар в сочетании с ИВТ. Повторные курсы рекомендуется проводить каждые 2 месяца. Средняя доза препарата Элькар составляет в возрасте 1- 6 месяцев – 75-150 мг/сутки, 6-12 месяцев - от 150 до 225 мг/сутки, 1 год – 3 года - от 200 до 300 мг/сутки. Длительность курса лечения препаратом Элькар - не менее 1 - 1,5 месяцев и ИВТ - 8-10 сеансов.

5. Для определения группы риска по формированию вторичной иммунной недостаточности у детей, перенесших перинатальную гипоксию, педиатрам рекомендуется использовать следующие иммунологические показатели: наличие лимфоцитопении за счет снижения содержания субпопуляций CD4+, CD20+, CD25+, снижение уровня IgA, IgG, в возрасте 3-6 месяцев. Группу риска по развитию вторичной митохондриальной недостаточности составляют дети, имеющие угнетение цитохимической активности клеточных ферментов СДГ, α -ГФДГ к первому полугодию жизни, по сравнению с нормой.

6. Доношенные дети, перенесшие перинатальное гипоксическое поражение ЦНС, требуют динамического наблюдения педиатра, невролога, иммунолога в течение 3-х лет жизни с разработкой индивидуальной программы реабилитации и профилактики вторичной иммунной и митохондриальной недостаточности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. *К вопросу об инвалидизирующих поражениях ЦНС с периода новорожденности* / Н.Е.Громада, Н.Н.Кузнецов, И.И.Деев [и др.] // Репродуктивное здоровье населения города Екатеринбурга в последнее пятилетие ХХ века : материалы науч.-практ. конф. врачей акушеров-гинекологов, неонатологов, педиатров города Екатеринбурга. Екатеринбург, 16 декабря 1999 г. – Екатеринбург, 1999 . - С.55-56.
2. *Нейроиммунологические изменения в системе «беременная с гестозом – новорожденный»* / Н.Е.Громада, Н.Н.Кузнецов, И.И.Деев [и др.] // Репродуктивное здоровье населения города Екатеринбурга в последнее пятилетие ХХ века : материалы науч.-практ. конф. врачей акушеров-гинекологов, неонатологов, педиатров города Екатеринбурга. Екатеринбург, 16 декабря 1999 г. – Екатеринбург, 1999 . - С.54-55.
3. *Эффективность препаратов, улучшающих метаболизм клетки при лечении перинатальных повреждений ЦНС у новорожденных и детей раннего возраста* / Н.Е.Громада, Н.А.Акрамова, О.А.Демина [и др.] // Актуальные проблемы клинического акушерства, гинекологии и неонатологии : сб. науч. тр. – Екатеринбург, 1999 . - С.206-210.
4. *Перинатальные повреждения нервной системы у новорожденных. Комплексная терапия* / Н.Е.Громада, В.Б.Чудаков, Л.С.Кузнецова [и др.] // Актуальные вопросы педиатрии и проблемы неврологии детского возраста : сб. науч. тр. посвящен 50-летию образования МУ «Детская больница № 5». – Екатеринбург, 2000 . - С.32-33.
5. *Громада Н.Е* Применение актовегина в комплексной терапии перинатальных поражений ЦНС у новорожденных и детей раннего возраста / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун // «Мать и дитя» : тез. докл. IV Российского форума. Москва, 21-25 октября, 2002 г. – М., 2002 . - С.500.
6. *Особенности неврологического статуса новорожденных, перенесших роды в условиях функционально узкого таза* / Н.Е.Громада, С.Ю.Лазарев, В.В.Ковалев [и др.] // Здоровый новорожденный: перинатальные проблемы и прогноз здоровья : сб. науч. тр. – Екатеринбург, 2002 . - С.120-123.
7. *Громада Н.Е* Особенности адаптационных иммунологических возможностей у новорожденных детей с перинатальным повреждением ЦНС / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун, Е.В.Аронскинд // Адаптационно-

- компенсаторные иммунологические реакции в норме и патологии у детей : сб. науч. ст. – Екатеринбург, 2003 . - С.100-103.
8. *Нервно-психическое развитие детей, перенесших натальную травму шейного отдела позвоночника* / Е.В.Аронскинд, О.П.Ковтун, Н.Е.Громада [и др.] // Интенсивная терапия в неонатологии . - 2003 . - №3 . - С.76-79.
 9. *Роль цитокинов в системном патоиммунологическом процессе при перинатальном повреждении ЦНС гипоксического генеза у новорожденных* / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун, Е.В.Аронскинд [и др.] // Медлайн-Экспресс . - 2003 . - №11 . - С.20-22.
 10. *Характеристика отдельных факторов иммунитета и их значение в формировании адаптационных реакций у новорожденных в норме и при перинатальном поражении ЦНС* / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун, Т.В.Бушуева [и др.] // «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» : материалы VII Всероссийского научного форума с международным участием имени академика Иоффе В.И. Санкт-Петербург, 23-26 июня, 2003 г. – СПб., 2003 . - № 5, №3-4 . - С.333.
 11. *Громада Н.Е. Пятилетний опыт применения кортикоидов при лечении отдаленных последствий перинатального поражения ЦНС гипоксического генеза* / Н.Е.Громада // Тетра Medica . - 2004 . - №2 . - С.48-50.
 12. *Громада Н.Е. Иммунологические и биоэнергетические нарушения у новорожденных детей с перинатальным поражением ЦНС гипоксического генеза* / Н.Е.Громада // Объединенный иммунологический форум : тез. докл. г. Екатеринбург, 31 мая – 4 июня, 2004 г. – Екатеринбург, 2004 . - С.41.
 13. *Особенности иммунитета недоношенных детей, перенесших критические состояния периода новорожденности* / Е.В.Аронскинд, И.А.Тузанкина, Н.Е.Громада [и др.] // Объединенный иммунологический форум : тез. докл. г. Екатеринбург, 31 мая – 4 июня, 2004 г. – Екатеринбург, 2004 . - С.311.
 14. *Гипервигиабинемии новорожденных (принципы диагностики и лечения)* : учебное пособие для студентов и врачей постдипломной подготовки / Е.В.Аронскинд, О.П.Ковтун, Н.Е.Громада [и др.] . - Екатеринбург, 2005 . - 40с.
 15. *Реабилитация детей с перинатальным поражением центральной нервной системы гипоксически-ишемического и гипоксически-геморрагического генеза* / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун, Е.Б.Николаева [и др.] // В кн.: Психологическое сопровождение и организационно-медицинские алгоритмы реабилитации . - Екатеринбург: «СВ-96» . - 2005 . - С.88-95.

16. *Громада Н.Е.* Влияние радиоволновой информационной терапии на клинико-функциональные показатели и состояние иммунитета у детей с перинатальным поражением ЦНС / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун // *Вестник Уральской медицинской академической науки* .- 2006 .- №4 .- С.101-104.
17. *Громада Н.Е.* Принципы комплексной терапии у новорожденных с перинатальным поражением ЦНС гипоксического генеза / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун // В кн.: Актуальные вопросы вскармливания и питания детей при острых и хронических заболеваниях. – Екатеринбург .- 2006 .- С.15-16.
18. *Громада Н.Е.* Применение препарата Элькар в комплексном лечении детей с перинатальным поражением ЦНС / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун // «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии» : материалы V Российского конгресса. Москва, 24-26 октября, 2006 г. – М., 2006 .- С.205.
19. *Опыт применения энерготропных препаратов в составе комплексной терапии у детей с перинатальным поражением ЦНС гипоксического генеза* / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун, Т.В.Бушуева [и др.] // Вопросы современной педиатрии .- 2006 .- Т.6, №1 .- С.162.
20. *Применение радиоволновой информационной терапии у детей с гипоксическими перинатальными поражениями центральной нервной системы* / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун, Т.В.Бушуева [и др.] // Уральский медицинский журнал .- 2006 .- №5 .- С.49-54.
21. *Применение энерготропных препаратов в составе комплексной терапии у детей с перинатальным поражением ЦНС* / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун, Т.В.Бушуева [и др.] // В кн.: Материалы IX Всероссийского съезда неврологов. Ярославль, 29 мая – 2 июня, 2006 г. – Ярославль, 2006 .- С.172.
22. *Эффективность метаболической энерготропной терапии при различных заболеваниях у детей* / Н.Е.Громада, Л.М.Лебедева, Н.Н.Липатова [и др.] // Практика педиатра .- 2006 .- Октябрь .- С.34-36.
23. *Громада Н.Е.* Иммунные нарушения и биоэнергетическая недостаточность у детей с перинатальными гипоксическими поражениями центральной нервной системы и их коррекция / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун // *Российский вестник перинатологии и педиатрии* .- 2007 .- №1 .- С.26-30.
24. *Громада Н.Е.* Роль цитокинов в гормональных реакциях у детей с гипоксическими перинатальными поражениями ЦНС / Н.Е.Громада // *Вестник Уральской медицинской академической науки* .- 2007 .- №2 .- С.63-67.

25. Громада Н.Е. Эффективность комплексной терапии у детей с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС. Катамнестическое наблюдение / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун // «Актуальные проблемы педиатрии» : материалы XI конгресса педиатров России. Москва, 5-8 февраля, 2007 г. – М.: Гэотармедиа, 2007. - С.182-183.
26. Громада Н.Е. Эффективность препарата кортексин в комплексной терапии у детей с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун, В.В.Ворошнин // В кн.: Материалы I Балтийского конгресса по детской неврологии. Санкт-Петербург, 8-9 июня, 2007 г. – СПб., 2007. - С.34-35.
27. Громада Н.Е. Клинико-диагностическое значение цитокинов и нейроспецифической енолазы у новорожденных с гипоксическим поражением ЦНС / Н.Е.Громада // В кн.: Материалы Всероссийского научного конгресса с международным участием, посвященного 150-летию со дня рождения В.М.Бехтерева. Казань, 27-30 июня, 2007 г. – Казань, 2007. - С.99-100.
28. Громада Н.Е. Анализ цитокино-гормональных взаимодействий у детей с перинатальным гипоксическим повреждением ЦНС / Н.Е.Громада // «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» : материалы XI Всероссийского научного форума с международным участием им. академика В.И.Иоффе. Санкт-Петербург, 28-31 мая, 2007 г. – СПб., 2007. - С.257.
29. Громада Н.Е. Нарушение энергетического обмена митохондрий у новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС / Н.Е.Громада, В.В.Ворошнин // «Актуальные проблемы психиатрии и неврологии» : материалы Всероссийской Юбилейной научно-практической конференции с международным участием. Санкт-Петербург, 18-19 октября, 2007 г. – СПб., 2007. - С.200.
30. Громада Н.Е. Результаты консервативного лечения пиелокстазий у новорожденных на фоне перинатального гипоксического поражения ЦНС / Н.Е.Громада, Т.Б.Аболина // «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии» : материалы VI Российского конгресса. Москва, 23-25 октября, 2007 г. – М., 2007. - С.123-124.
31. Громада Н.Е. Эффективность метода кариометрии лимфоцитов в диагностике тяжести гипоксического поражения центральной нервной системы у новорожденных / Н.Е.Громада // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2008. - №2. - С.19-23.

32. Громада Н.Е. Изменения уровня цитокинов и показателей кариометрии у новорожденных с перинатальной гипоксией / Н.Е.Громада // Российский иммунологический журнал. - 2008. - Т.2(11), №2-3. - С.327.
33. Громада Н.Е. Синдром мышечной гипотонии: особенности конституции или гипоксия / Н.Е.Громада // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2008. - Т.53, №6. - С.42-47.
34. Громада Н.Е. Цитокиновый профиль и количественное значение ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови у новорожденных с гипоксическим перинатальным поражением центральной нервной системы / Н.Е.Громада // Цитокины и воспаление. - 2008. - Т.7, №3. - С.14-18.
35. Громада Н.Е. Применение плойдометрии лимфоцитов в диагностике гипоксических состояний у новорожденных / Н.Е.Громада, С.Е.Брохман // В кн.: Труды III съезда Российского общества детских патологов. Санкт-Петербург, 19-20 мая, 2008 г. – СПб., 2008. - С.11-14.
36. Громада Н.Е. Структурно-параметрические и биоэнергетические клеточные нарушения у новорожденных с гипоксическим поражением ЦНС. Коррекция / Н.Е.Громада // «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии» : материалы VII Российского конгресса. Москва, 21-23 октября, 2008. - М., 2008. - С.178.
37. Громада Н.Е. Диагностическое значение цитокинов у новорожденных с тяжелым гипоксическим поражением центральной нервной системы / Н.Е.Громада // Уральский медицинский журнал. - 2008. - Т.52, №12. - С.140-145.
38. Громада Н.Е. Особенности иммунологической реактивности и клеточного энергообмена у новорожденных с тяжелым гипоксическим перинатальным поражением центральной нервной системы / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун // Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2008. - №4. - С.51-54.
39. Энергодефицитный диатез и гипоксия у новорожденных / Н.Е.Громада, О.П.Ковтун, Е.Б.Николаева [и др.] // Актуальные проблемы педиатрии : материалы I конгресса педиатров Урала. Екатеринбург, 22-23 мая, 2008 г. - Екатеринбург, 2008. - С.47-48.
40. Патент на изобретение №2345363 Российской Федерации, МПК G01N 33/52. Способ оценки степени тяжести гипоксического перинатального поражения ЦНС у доношенных новорожденных детей / Заявитель и

- патентообладатель Громада Н.Е.; авторы : Н.Е.Громада, С.Е.Брохман, А.В.Панов .- № 2007134551/15; заявл. 17.09.2007; опубл. 27.01.2009 // Офиц. бюллентень «Изобретения. Полезные модели» - М.: ФИПС, 2009 .- №3 (V ч.).- С.1333.
41. Патент на изобретение №2345364 Российская Федерация, МПК G01N 33/52. Способ оценки степени тяжести гипоксического перинатального поражения ЦНС у доношенных новорожденных детей / Заявитель и патентообладатель Громада Н.Е.; авторы : Н.Е.Громада, С.Е.Брохман, А.В.Панов. - № 2007134610/15; заявл. 17.09.2007; опубл. 27.01.2009 // Офиц. бюллентень «Изобретения. Полезные модели» .- М.: ФИПС, 2009 .- №3 (V ч.) .- С.1334.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- α-ГФДГ – альфа глициерофосфатдегидрогеназа
 БАТ – биологически активная точка
 ВЖК – внутрижелудочковое кровоизлияние
 ВПР – врожденные пороки развития
 ВУИ – внутриутробная инфекция
 ГГС – гипертензионно-гидроцефальный синдром
 ГДГ – глутаматдегидрогеназа
 ГЭБ – гематоэнцефалический барьер
 ДН - дыхательная недостаточность
 ДЦП – детский церебральный паралич
 ЗПРМ – синдром задержки психомоторного развития
 ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода
 ИВЛ – искусственная вентиляция легких
 ИВТ – информационная радиоволновая терапия
 ИЛ – интерлейкин (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-4)
 ЛДГ – лактатдегидрогеназа
 МДГ – малатдегидрогеназа
 МПЩ – межполушарная щель
 МРТ – магнитно-резонансная томография
 НСГ – нейросонография
 НСЕ – нейронспецифическая енолаза
 ОРЗ – острое респираторное заболевание
 ПВЛ – перивентрикулярная лейкомалия
 ППЦНС – перинатальное поражение центральной нервной системы
 РЦОН – резидуальная церебральная органическая недостаточность
 СДГ – сукцинатдегидрогеназа
 СДР – синдром дыхательных расстройств
 СМЖ – спинномозговая жидкость
 СПНРВ – синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости
 ФНО- α – фактор некроза опухолей
 ХФПН – хроническая фетоплацентарная недостаточность
 ЦНС – центральная нервная система

ГРОМАДА
НАТАЛЬЯ ЕВГЕНЬЕВНА

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ
НАРУШЕНИЯ У ДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С ГИПОКСИЧЕСКИМ
ПЕРИНАТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ
СИСТЕМЫ, ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИСХОДОВ
И ОПТИМИЗАЦИЯ ЛЕЧЕНИЯ

14.00.09 – Педиатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Автореферат напечатан по решению профильной комиссии
ГОУ ВПО УГМА Росздрава от 18.03.09.