

**УСТЬЯНЦЕВА**  
**Людмила Станиславовна**

**КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОСОБЕННОСТИ ВРОЖДЕННОГО И  
АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ДЕТЕЙ С ЭКСТРЕМАЛЬНО НИЗКОЙ МАССОЙ  
ТЕЛА НА ЭТАПЕ РАННЕЙ РЕАБИЛИТАЦИИ**

14.01.08 – Педиатрия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**ЧИСТЯКОВА Гузель Нуховна**

**Официальные оппоненты:**

**ТУЗАНКИНА Ирина Александровна** – доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный деятель науки Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления

**ВОЛОСНИКОВ Дмитрий Кириллович** – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой госпитальной педиатрии, клинической иммунологии и аллергологии

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 208.102.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке имени В. Н. Климова ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д.17 и на сайте университета [www.usma.ru](http://www.usma.ru), а с текстом автореферата – на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ: [vak3.ed.gov.ru](http://vak3.ed.gov.ru).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д208.108.02,  
доктор медицинских наук, профессор



Гришина Ирина Фёдоровна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Проблема рождения детей с экстремально низкой массой тела является одной из наиболее актуальных в современной перинатологии в связи с высоким риском заболеваемости и смертности (Айламазян Э.К. и соавт. 2012, Коваленко Т.В. и соавт. 2013, Башмакова Н.В. и соавт. 2015). На фоне снижения доли тяжелых осложнений в связи с совершенствованием организационных и медицинских технологий выхаживания детей с экстремально низкой массой тела, а также качества пренатального наблюдения беременных женщин групп высокого риска (Виноградова И.В. и соавт. 2013), показатели хронической патологии и инвалидизации не имеют существенной тенденции к снижению (Деев И.А. и соавт., 2016, Громада Н.Е. и соавт. 2017, Moore G.P. et al. 2013). По данным иностранных источников, выживаемость детей с экстремально низкой массой тела за последние два десятилетия значительно увеличилась с 42 до 76% (Latini G. et al., 2013, Barbara J. Stoll et al., 2015), однако, число здоровых детей не превышает 10-25%, а процент тяжелых неврологических исходов составляет от 12 до 32% (Громада Н.Е. 2008, Mohamed N.A. et al. 2010).

Причиной высокого уровня заболеваемости глубоко недоношенных новорожденных является функциональная незрелость дыхательной, сердечно-сосудистой, иммунной, центральной нервной систем, что обуславливает наибольшую подверженность детей с экстремально низкой массой тела к развитию различных патологических состояний (Айламазян Э.К. и соавт. 2011, Михалев В.Е. и соавт., 2016). Иммунная система ребенка играет ведущую роль в патогенезе, клиническом течении и исходе гипоксических и инфекционных заболеваний, что во многом определяет возможность полноценной реабилитации недоношенных детей (Воробьев А.А. и соавт. 2006). В последние годы в развитии патологии перинатального периода активно изучается роль цитокинового каскада (O'Shea J.E. et al. 2012, Caron J.E. et al. 2010, Karitanović Vidak H. 2012). Теория дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов рассматривается как в патогенезе инфекционного процесса (Ефимов М.С. и соавт. 2010, Скорикова Е.А. и соавт. 2014, Фомина М.П. 2012), так и при неинфекционных постгипоксических состояниях (Schwartz R.S. et al. 2011). Большинство научных исследований относится к оценке адаптивного иммунитета (Чарипова Б.Т. и соавт. 2010, Luciano A.A. et al. 2014), тогда как данные о функционировании врожденного иммунитета у детей различного гестационного возраста представлены фрагментарно. Между тем, именно состояние иммунокомпетентных клеток, обеспечивающих врожденный иммунитет, является основополагающим фактором защиты от присоединения бактериальных осложнений и формирования иммунной дисфункции.

В современных работах уделяется большое внимание этапу выхаживания детей с экстремально низкой массой тела в условиях отделения реанимации (Захарова Л.И. и соавт. 2010, Перцева В.А. и соавт. 2012), однако, немногочисленны работы, посвященные изучению данной категории детей на этапе ранней реабилитации, на который новорожденные переводятся для дальнейшего выхаживания после стабилизации состояния и восстановления основных витальных функций.

На фоне дефицита гуморальных факторов защиты, маркеров неспецифической резистентности, недостаточности врожденного и адаптивного иммунитета, повышенной инфекционной заболеваемости детей с экстремально низкой массой тела важным является изучение механизмов развития постнатальных осложнений с позиций клинической и иммунологической адаптации недоношенного ребенка, что и определило цель настоящей работы.

### **Цель работы:**

Оценить клиническое состояние и особенности врожденного и адаптивного звена иммунитета детей с экстремально низкой массой тела с постнатальной патологией на этапе ранней реабилитации.

### **Задачи исследования:**

1. Изучить анамнестические данные и клиническую характеристику детей с экстремально низкой массой тела на этапе ранней реабилитации.
2. Выявить особенности врожденного и адаптивного иммунитета у детей с экстремально низкой массой тела в динамике постнатального периода в зависимости от гестационного возраста и при формировании постнатальной патологии на этапе ранней реабилитации.
3. Оценить показатели врожденного иммунитета детей с экстремально низкой массой тела на локальном уровне в зависимости от гестационного возраста.
4. Определить информативные признаки развития постнатальной патологии у детей с экстремально низкой массой тела и разработать алгоритм дополнительного обследования данной категории новорожденных на этапе ранней реабилитации с учетом иммунологических параметров.

### **Научная новизна**

Получены новые данные об особенностях функционирования иммунной системы детей с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) на системном и локальном уровне. Установлено, что продукция цитокинов (IL-4 и IL-8), уровень экспрессии активированных моноцитов (CD14<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>-, CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>HLA-DR) и лимфоцитов (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup>) у всех детей с ЭНМТ вне зависимости от гестационного возраста (ГВ) имеют однонаправленный характер и изменяются в динамике постнатального периода. Показано, что изменение

микробного пейзажа кишечника у всех детей с ЭНМТ на этапе ранней реабилитации сопровождается повышением концентрации IFN- $\gamma$  и IL-4, и уменьшением содержания IL-6 и IL-8 на фоне увеличения продукции sIgA в копрофилтратых.

Впервые определено, что прогрессирование бронхолегочной дисплазии (БЛД) и ретинопатии недоношенных (РН) детей ГВ 22-27 недель на этапе ранней реабилитации сопровождается снижением адгезивной способности моноцитов (CD14CD64) в возрасте 1 месяца жизни, уменьшением количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов и повышением уровня NK-клеток в постконцептуальном возрасте (ПКВ) 38-40 недель. У детей ГВ 28-31 недели развитию тяжелых форм заболевания, предшествует увеличение уровня экспрессии рецепторов CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> - моноцитами пуповинной крови.

Впервые выявлены характерные изменения показателей врожденного и адаптивного иммунитета при формировании тяжелой степени БЛД. У всех глубоко недоношенных детей прогрессирование данного патологического процесса сопровождается увеличением синтеза IL-8 в сыворотке крови в возрасте 1 месяца жизни. В ПКВ 38-40 недель на фоне выявленных изменений у детей ГВ 22-27 недель отмечается снижение способности моноцитов к презентации антигена (CD14HLA-DR) и уменьшение численности CD3<sup>+</sup>- лимфоцитов, а у детей ГВ 28-31 недели – повышение абсолютного количества лейкоцитов.

Впервые установлено, что особенностью иммунного ответа детей ГВ 22-27 недель, сформировавших впоследствии РН III стадии, является уменьшение количества CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> -клеток и CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> -моноцитов в ПКВ 38-40 недель и повышение в этот период относительного числа CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> -моноцитов. У детей ГВ 28-31 недели с РН III стадии – увеличение абсолютного количества CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> -моноцитов в возрасте 1 месяца жизни, повышение доли CD19<sup>+</sup> и достоверное уменьшение молекул адгезии (CD14<sup>+</sup>CD11b) в ПКВ 38-40 недель.

### **Практическая значимость**

Предложены способы прогнозирования формирования БЛД тяжелой степени, два способа прогнозирования пороговой стадии ретинопатии у детей с ЭНМТ в неонатальном периоде и сформирован алгоритм ведения недоношенных детей с высоким риском постнатальных осложнений на этапе ранней реабилитации.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Состояние здоровья детей, родившихся с ЭНМТ, характеризуется высокой частотой формирования неврологической патологии, дыхательных нарушений, инфекционных осложнений, тяжесть которых зависит от срока гестации.
2. Развитие постнатальной патологии глубоко недоношенного ребенка реализуется с участием факторов врожденного и адаптивного иммунитета.

3. Определение содержания активированных моноцитов ( $CD14^+HLA-DR^+$ ,  $CD14^+CD64^+$ ) и лимфоцитов ( $CD4^+CD25^+$ ), уровня IL-4, IL-6 в пуповинной крови, концентрации гемоглобина в периферической крови с учетом пола ребенка, массы тела и количества суток, проведенных в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных, позволяет прогнозировать риск реализации тяжелой степени БЛД и пороговой стадии ретинопатии в неонатальном периоде.

#### **Апробация работы**

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на заседаниях проблемной комиссии и Ученого Совета Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Минздрава России, Пермском научном форуме: XVII конференция «Иммунология Урала» (Пермь, 2015), IV Конгрессе акушеров-гинекологов УФО, посвященный 70-летию Победы в Великой Отечественной Войне (Екатеринбург, 2015), XVI Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2015), Международной конференции «Репродуктивная медицина: взгляд молодых 2016» (Санкт-Петербург, 2016), Малышевских чтениях, посвященных 100-летию присвоения статуса «Повивально-гинекологического института» (Екатеринбург, 2016), Уральских чтениях: III общероссийский научно-практический семинар «Репродуктивный потенциал России» (Екатеринбург, 2017), научно-практической конференции «Перинатальная медицина – от истоков к современности», посвященная 140 – летнему юбилею Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Минздрава России (Екатеринбург, 2017).

По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ в печатных изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве образования и науки РФ.

#### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты диссертационного исследования используются при чтении лекций, проведении практических занятий с клиническими ординаторами, циклах повышения квалификации врачей, а также внедрены в практику отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Минздрава России. Разработаны «Способ прогнозирования развития бронхолегочной дисплазии тяжелой степени у недоношенных детей с экстремально низкой массой тела в неонатальном периоде» (приоритетная справка рег.№ 201710805 от 10.03.2017), «Способ прогнозирования развития пороговой стадии ретинопатии у недоношенных детей с экстремально низкой массой тела» (патент на изобретение №2641161 от 16.01.2018 г. по заявке №2016135583/14 (055768) от 01.09.16), «Способ прогнозирования формирования пороговой стадии ретинопатии

недоношенных у детей с экстремально низкой массой тела в раннем неонатальном периоде» (приоритетная справка рег.№ 2018101029 от 30.01.2018).

### **Объём и структура диссертации**

Диссертация изложена на 175 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав с изложением результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованных сокращений и списка литературы, включающего 188 источников, из них 102 отечественных и 86 зарубежных. Работа иллюстрирована 62 таблицами и 2 рисунками.

### **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

#### **Материалы и методы исследования**

Проведено сравнительное проспективное когортное обследование 89 детей с ЭНМТ, родившихся в сроке гестации 22-31 недели, и 25 здоровых доношенных новорожденных (2014-2016 гг.).

Недоношенные дети были подразделены на две группы:

1-я группа – 46 новорожденных с ЭНМТ, родившихся в сроке гестации 22-27 недель (сверхранние преждевременные роды);

2-я группа – 43 новорожденных с ЭНМТ, родившихся в сроке гестации 28-31 недели (ранние преждевременные роды).

3-ю группу сравнения составили 25 здоровых доношенных новорожденных детей, родившихся в гестационном сроке 38-40 недель от условно здоровых женщин благоприятного репродуктивного возраста (20-34 лет) с физиологически протекавшими беременностью, родами и послеродовым периодом.

Недоношенные новорожденные выхаживались в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных (ОРИТН) (зав. ОРИТН – Заслуж. врач РФ, к.м.н. Русанов С.Ю.), а также в отделении патологии новорожденных и недоношенных детей №1 (зав. ОПН №1 – к.м.н. Ширяева Е.К.) под наблюдением реаниматолога, неонатолога, детского невролога. Доношенные дети наблюдались в отделении новорожденных и недоношенных детей (зав. ОННД – к.м.н. Якорнова Г.В.) Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Минздрава России (директор – д.м.н., проф., Заслуж. врач РФ Башмакова Н.В.).

В ходе исследования в зависимости от сформировавшейся патологии на этапе ранней реабилитации с учетом ГВ дети были разделены на группы.

Дети с БЛД с ГВ 22-27 недель: 1А группа – БЛД тяжелой степени, n=17; 1В группа – БЛД легкой и среднетяжелой степени тяжести, n=18; 1С группа – без БЛД, n=7. Дети с БЛД

с ГВ 28-31 неделя: 2А группа – БЛД тяжелой степени тяжести, n=9; 2В группа – БЛД легкой и среднетяжелой степени тяжести, n=24; 2С группа – без БЛД n=9.

Дети с ретинопатией I-III стадии с ГВ 22-27 недель: 1D группа – РН III стадии, n=14; 1Е группа – РН I-II стадии, n=19. Дети с ретинопатией I-III стадии с ГВ 28-31 недели: 2D группа – РН III стадии, n=8; 2Е группа – РН I-II стадии, n=30.

Критерий включения детей в основную группу - масса тела при рождении менее 1000 грамм.

Критерии исключения - масса тела при рождении более 1000 грамм, врожденные пороки развития, диагностированные антенатально, генетическая патология и болезни обмена, гемолитическая болезнь новорожденных.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Минздрава России, от всех женщин получено информированное согласие на использование биологического материала их детей в научных целях.

Для изучения анамнестических данных проведен анализ медицинской документации: индивидуальные обменные карты беременных женщин (форма 113/у), истории родов, истории развития новорожденных (форма 027/у). Всем новорожденным проводилась оценка антропометрических показателей при рождении в сопоставлении с ГВ с использованием оценочных таблиц и регрессионных шкал (Дементьева Г.М., Короткая Е.А., 1980) и центильных таблиц (Дементьева Г.М. 1980, Fenton T.R., 2013), анализ структуры заболеваемости в периоде постнатальной адаптации до достижения ПКВ 38-40 недель.

Обследование недоношенных новорожденных проводилось в возрасте 1-х суток, 1 месяца жизни и ПКВ 38-40 недель. Доношенные дети были обследованы в возрасте 1-х суток жизни.

Лабораторные исследования проводились на базе отделений: клиническо-диагностического (зав. отделением, к.б.н. Пестряева Л.А.), иммунологии и клинической микробиологии (рук. отделения д.м.н., проф. Чистякова Г.Н.).

Гематологические. Исследование общего анализа периферической крови (уровень гемоглобина, количество эритроцитов, гематокрит, средний объем эритроцита, количество лейкоцитов, тромбоцитов и содержание форменных элементов) проводили на гематологическом анализаторе «ABX Micros 60-OT18» (Франция).

Биохимические. Определение уровня общего белка, глюкозы в сыворотке крови осуществляли оптимизированным кинетическим методом с использованием автоматического биохимического анализатора «Sapphire 400» (Япония) и тест-наборов фирмы «Cormeu» (Польша).



Определение парциального напряжения газов крови и показателей кислотно-основного состояния, уровня электролитов проводили с использованием автоматической системы определения ионного и газового состава крови «GemPremier 3100» производства фирмы «Instrumentation Laboratory Co» (США) и реактивов того же производителя. Оценивали параметры: кислотность крови (рН), парциальное напряжение двуокиси углерода (рСО<sub>2</sub>) и кислорода (рО<sub>2</sub>), содержание буферных оснований во внеклеточной жидкости (ВЕесf), концентрацию стандартного бикарбоната (сНСО<sub>3</sub><sup>-</sup>), содержание ионов натрия (Na<sup>+</sup>), калия (K<sup>+</sup>), кальция (Ca<sup>++</sup>).

Иммунофенотипирование лимфоцитов осуществляли методом проточной лазерной цитофлуориметрии на анализаторе «FACS Calibur» фирмы «Becton Dickinson» (США) с использованием наборов моноклональных антител того же производителя, конъюгированных с флуоросцеинизотиоцианатом (FITC) и фикоэритрином (PE). Определяли количество лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD4/CD8<sup>+</sup>, CD16/CD56<sup>+</sup>), маркеры активации моноцитов (CD14HLA-DR, CD14CD71, CD14CD11b, CD14CD64) и лимфоцитов (CD4CD25), внутриклеточной продукции цитокинов (CD4<sup>+</sup>INF-γ<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup>).

Содержание цитокинов определяли в сыворотке крови (INF-γ, IL-8, IL-4, IL-6) и копрофильтратах (INF-γ, IL-8, IL-4, IL-6) методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческих тест-систем «Вектор-Бест» (Россия) в соответствии с рекомендациями производителей наборов. Уровень sIgA в копрофильтратах оценивали при использовании тест-систем «Immundiagnostik» (Германия).

Детекцию результатов исследования проводили на иммуноферментных анализаторах «Victor» фирмы «LKBWallac» и «Multiskan MCC/340» фирмы «Labsystems» (Финляндия).

Всем недоношенным новорожденным проводилась нейросонография с цветовой и импульсной доплерографией сосудов головного мозга, ультразвуковое исследование внутренних органов и сердца на аппаратах LOGIQe (GEMedicalSistems (China) Co., LTD) и «PHILIPS HD 15» («Филипс Ультрасаунд, Инк.», США) по стандартной методике (детский невролог, врач УЗИ, Заслуж. врач РФ Воронина Л.И., к.м.н., врач УЗИ Краева О.А.).

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием пакета прикладных программ Microsoft Office Excel 2007 для Windows, Statistica 6.0, IBM SPSS Statistics 22. В случае подчинения признака закону нормального распределения данные представляли в виде средней величины (M) и стандартной ошибки средней (m). В случае несоответствия признаку закону нормального распределения данные представляли в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го процентилей, P25 и P75). Проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков

осуществляли с помощью непараметрического критерия Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis), при отклонении нулевой гипотезы в ходе анализа проводили попарное сравнение групп, при попарных сравнениях использовали U-критерий Манна-Уитни. Уровень значимости ( $p$ ) с учетом поправки Бонферрони принимали равным или менее 0,017, при  $0,05 < p < 0,017$  констатировали тенденцию к изменению параметров. Направление и силу связи признаков определяли методом корреляционного анализа с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена ( $r$ ).

Для создания модели прогноза использовали модуль «Общие модели дискриминантного анализа» (GDA, General Discriminant Analysis Models).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проведенных исследований установлено, что антенатальный период детей с ЭНМТ (1-я и 2-я группы) протекал на фоне угрозы прерывания беременности (56,5% и 53,48%), преэклампсии (30,39% и 39,52%), хронической плацентарной недостаточности (50,06% и 66,81%), маловодия (26% и 46,51%,  $p=0,005$ ), истмико-цервикальной недостаточности (30,43% и 25,58%). Достоверно чаще у женщин со сверхранными преждевременными родами выявлялся хориоамнионит (19,56% против 2,32% во 2-й группе,  $p=0,007$ ) и преждевременный разрыв плодного пузыря (26,66% против 13,95%,  $p=0,024$ ), а у женщин с ранними преждевременными родами – нарушение маточно-плацентарного кровотока III степени (46,51% против 17,39% в 1-й группе,  $p=0,006$ ), что впоследствии обусловило более частое развитие инфекционной патологии (сепсис и пневмония) и летальный исход (8,7%) в раннем неонатальном периоде у новорожденных с ГВ 22-27 недель и синдром задержки роста плода у детей с ГВ 28-31 недели (83,7% против 17,4% в 1-й группе,  $p=0,0001$ ).

Средний гестационный возраст детей, родившихся в сроке сверхранных преждевременных родов, достоверно отличался от аналогичного показателя детей 2-й и 3-й групп ( $25,89 \pm 1,26$  и  $29,13 \pm 1,32$ ,  $39,32 \pm 0,8$  недель гестации,  $p \leq 0,001$  во всех случаях). Масса тела при рождении недоношенных детей составляла  $822,15 \pm 125,74$  г,  $892,47 \pm 111,8$  г и  $3451,87 \pm 470,72$  г ( $p_{1-2}=0,006$ ,  $p_{1-3, 2-3} \leq 0,001$ ), длина тела –  $33,38 \pm 4,16$  см,  $33,62 \pm 2,7$  и  $51,16 \pm 2,83$  см ( $p_{12} \geq 0,05$ ,  $p_{1-3, 2-3} \leq 0,001$ ). По половому признаку основные группы были сопоставимы.

Дети основных групп родились с низкими оценками по шкале Апгар, что отражает тяжесть перенесенной асфиксии и внутриутробного страдания. У новорожденных 1-й основной группы на первой минуте асфиксия тяжелой степени тяжести (менее 3 баллов по шкале Апгар) была выявлена в 26,19% случаев и 16,27% у детей 2-й основной группы ( $p_{1-2} > 0,05$ ). Признаки средней степени асфиксии имели 30 (65,21%) и 23 (53,49%) недоношенных детей (4-5 баллов по шкале Апгар на 1-й минуте жизни,  $p_{1-2} > 0,05$ ). При оценке кислотно-основного состояния детей с ЭНМТ метаболический ацидоз в 1-й и 2-й группах новорожденных регистрировался в 23,91%

и 27,9% случаев, нарушения в виде смешанного ацидоза – в 19,56% и 18,6%, респираторного ацидоза – в 4,34% и 23,26% наблюдений. Респираторный алкалоз был выявлен у одного ребенка 1-й группы.

Течение постнатального периода недоношенных новорожденных характеризовалось наличием тяжелой сочетанной патологии (таблица 1). В раннем неонатальном периоде дети основных групп перенесли респираторный дистресс-синдром (РДС) различной степени тяжести, однако, искусственная вентиляция легких потребовалась 89,1% и 58,1% новорожденных 1-й и 2-й групп соответственно.

Таблица 1- Структура заболеваемости детей с ЭНМТ в возрасте 1 месяца жизни

Нозологическая форма	1-я группа (n=42)		2-я группа (n=43)		p
	абс	%	абс	%	
Гипоксически-ишемическое поражение ЦНС: церебральная ишемия II ст.	0	0	5	11,63	
церебральная ишемия III ст.	42	100	38	88,37	
Ишемически-геморрагическое поражение ЦНС: ВЖК I ст.	7	16,7	8	18,6	
ВЖК II ст.	11	26,19	2	4,65	$p_{1-2}=0,02$
ВЖК III ст.	8	19,04	2	4,65	$p_{1-2}=0,023$
Болезни органов дыхания: Бронхолегочная дисплазия	17	40,48	3	6,98	$p_{1-2}=0,0001$
Инфекционно-воспалительная патология: Сепсис	15	35,71	3	6,98	$p_{1-2}=0,001$
Пневмония	27	64,29	10	23,26	$p_{1-2}=0,0001$
Менингит	2	4,76	0	0	
Врожденная цитомегаловирусная инфекция	4	9,52	1	2,32	
Анемия тяжелой степени тяжести	22	52,38	12	27,9	$p_{1-2}=0,017$

Примечание:  $p_{1-2}$  – уровень значимости различий между группами детей (критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса): 1 – дети, родившиеся в сроке гестации 22 – 27 недель, 2 - дети, родившиеся в сроке гестации 28 – 31 недели.

Тяжелое гипоксически-ишемическое поражение центральной нервной системы (ЦНС) и внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) тяжелой степени, а также инфекционно-воспалительная патология (сепсис, пневмония) чаще диагностировались у детей ГВ 22-27 недель. Ранний сепсис у детей 1-й группы встречался в 4 раза чаще, чем у детей ГВ 28-31 недели (19,04% против 4,65%,  $p=0,024$ ). Ранняя неонатальная пневмония диагностировалась в 23,8% случаев у новорожденных 1-й группы и в 13,95% случаев у новорожденных 2-й группы. По частоте встречаемости цитомегаловирусной инфекции и менингита достоверных отличий

выявлено не было. Врожденная цитомегаловирусная инфекция у детей основных групп диагностировалась в 4,76% и 2,32% случаев.

В клинической картине поражения ЦНС у недоношенных детей к ПКВ 38-40 недель доминировал синдром двигательных нарушений, который сформировался по типу нижнего спастического парализа у каждого четвертого и второго ребенка 1-й и 2-й групп соответственно, однако, спастический тетрапарез наблюдался у недоношенных детей гестационного возраста 22-27 недель в 5 раз чаще (11,9% против 2,32%). Гипертензионно-гидроцефальный синдром был выявлен у 80,1% и 65,11% детей основных групп. Бульбарные расстройства и судорожный синдром были диагностированы только у детей, родившихся в сроке сверхранних преждевременных родов (7,14% случаев).

У всех детей основных групп была выявлена анемия недоношенных, тяжелая степень диагностировалась в 100% и 93% детей обеих групп. Однако количество проведенных гемотрансфузий было значительно выше у детей ГВ 22-27 недель ( $2,59 \pm 1,99$  и  $1,49 \pm 1,4$  раз,  $p=0,008$ ).

Несмотря на усовершенствование методов реанимационной помощи (щадящие режимы искусственной вентиляции легких, предпочтение неинвазивной вентиляции со снижением параметров оксигенации, раннее применение препаратов сурфактанта, улучшение технологий базового неонатального ухода), более чем у половины недоношенных детей к ПКВ 38-40 недель была диагностирована БЛД различной степени тяжести (85,71% и 58,14% в 1-й и 2-й группах). Каждый пятый ребенок, сформировавший БЛД, перенес в раннем периоде адаптации сепсис и каждый второй в неонатальном периоде – пневмонию.

БЛД тяжелой степени у детей ГВ 22-27 недель встречалась в 1,8 раза чаще (26,19% против 13,95%,  $p=0,053$ ), что связано с достоверно более длительным нахождением на искусственной вентиляции легких ( $11,61 \pm 10,77$  суток против  $2,93 \pm 4,34$  суток,  $p=0,0001$ ) на фоне незавершенности процессов альвеоло- и ангиогенеза, отягощенного соматического и акушерского анамнеза матери (хориоамнионит, преэклампсии), обширными ВЖК, функционирующим открытым артериальным протоком.

Дети от сверхранних преждевременных родов, сформировавшие БЛД тяжелой степени, имели меньший ГВ ( $25,4 \pm 1,53$ ,  $26,2 \pm 0,88$  и  $26,57 \pm 0,53$  недель, соответственно  $p_{1В-2В}=0,04$ ,  $p_{1В-3В}=0,01$ ) и массу тела при рождении ( $751,1 \pm 119,4$  г,  $844,17 \pm 96,5$  и  $968,57 \pm 33,38$  г соответственно  $p_{1В-2В}=0,01$ ,  $p_{1В-3В}$ ,  $2В-3В=0,0001$ ).

У детей от ранних преждевременных родов с тяжелой, а также легкой и средней степенью тяжести БЛД разница в ГВ была несущественной ( $28,67 \pm 0,71$ ,  $28,96 \pm 1,12$  и  $29,58 \pm 1,56$  недель в 1-й, 2-й и 3-й группах,  $p_{1В-3В}=0,08$ ,  $p_{1В-2В}$ ,  $2В-3В>0,05$ ), однако, масса тела у детей с БЛД тяжелой степени была достоверно ниже, чем у детей от ранних преждевременных родов с БЛД

легкой и средней степени тяжести и недоношенных новорожденных без БЛД ( $781,11 \pm 158,6$  г,  $909,08 \pm 84,9$  г и  $951,22 \pm 51,48$  г,  $p_{1A-1C, 1A-1B} = 0,001$ ).

У всех детей от сверхранных преждевременных родов, сформировавших БЛД и не имеющих данной патологии, пневмония регистрировалась с одинаковой частотой (в 82,3%, 50% и 57,1% в 1-й, 2-й и 3-й группах,  $p > 0,05$ ). Однако у детей от ранних преждевременных родов БЛД практически в 5 раз чаще диагностировалась у детей с тяжелой степенью, чем у детей с легкой и среднетяжелой степенью и детей без БЛД (66,7% против 12% и 11,1% случаев). Значимых различий в частоте выявления сепсиса у детей с различной степенью БЛД не выявлено (47,1% и 27,8%).

Этиология и патогенез ранней анемии недоношенных детей определяются физиологическими и биохимическими особенностями эритропоэза и его регуляции, а также гестационным возрастом ребенка (Сергеева А.И. и соавт., 2006). Проведенные исследования показали, что анемия недоношенных наблюдалась чаще у детей с ЭНМТ ГВ 22-27 недель.

Анемия тяжелой степени в периоде новорожденности у детей с тяжелой БЛД, как от сверхранных, так и от ранних преждевременных родов встречалась в 2,5 и 2,8 раза чаще, чем у детей того же ГВ с легкой и среднетяжелой БЛД, что потребовало проведение повторных гемотрансфузий достоверно чаще у новорожденных от сверхранных преждевременных родов ( $4,3 \pm 2,19$  против  $2,2 \pm 1,3$  раза,  $p < 0,01$ ). У детей с ГВ 28-31 недели и тяжелой формой БЛД повторные гемотрансфузии встречались в 2 раза чаще ( $2,7 \pm 1,75$  против  $1,3 \pm 1,5$  раза у детей с БЛД легкой и среднетяжелой степенью), однако, значимых различий выявлено не было.

Наиболее распространенной патологией у детей с ЭНМТ является ретинопатия недоношенных, причиной развития которой служат факторы, приводящие к нарушению нормального васкулогенеза сетчатки. По данным литературы, дети с меньшей массой тела при рождении и меньшим сроком гестации имеют наибольший риск развития РН и ее тяжелых форм (Нероев В.В. и соавт. 2015). Дети от сверхранных преждевременных родов, сформировавших впоследствии РН III стадии, имели меньшую массу тела ( $802,071 \pm 112,4$  г против  $897,3 \pm 88,5$  г у детей с РН I-II стадии,  $p = 0,014$ ), а дети от ранних преждевременных родов – меньший ГВ ( $28,4 \pm 0,74$  против  $29,3 \pm 1,3$  недель ГВ,  $p = 0,017$ ). Девочки от сверхранных преждевременных родов в 2 раза чаще развивали РН III стадии, чем мальчики.

Анимию тяжелой степени в периоде новорожденности вне зависимости от ГВ перенесла половина детей с РН III стадии (таблица 2).

Таблица 2 - Структура заболеваемости недоношенных детей с РН

	Дети от сверхранних преждевременных родов (22-27 недель)		Дети от ранних преждевременных родов (28-31 неделя)	
	РН III стадии (1С группа, n=14)	РН I-II стадии (2С группа, n=19)	РН III стадии (3С группа, n=8)	РН I-II стадии (4С группа, n=30)
Анемия тяж.ст.	7(50%)	9(47,3%)	4(50%)	6(20%)
Сепсис	5(35,7%)	4(21,1%)	0%	1(3,3%)
Пневмония	10(71,4%)	11(57,9%)	3(37,5%)	0%
БЛД легкой и среднетяж. ст.	3(21,05%)	8(42,1%)	1(12,5%)	4(13,3%)
БЛД тяж.ст.	6(42,9%)	4(21,05%)	3(37,5%)	2(6,7%)

Примечание:  $p > 0,05$  во всех случаях.

Проведение повторных гемотрансфузий достоверно чаще регистрировалось у детей ГВ 22-27 недель ( $3,64 \pm 2,34$  против  $1,74 \pm 1,24$  раз у детей с РН I-II стадии,  $p=0,01$ ), у детей с ГВ 28-31 недели значимых различий в частоте гемотрансфузий не выявлено ( $2,12 \pm 1,46$  и  $1,22 \pm 1,23$  раз,  $p > 0,05$ ). БЛД III степени тяжести в 2 чаще отмечалась у детей с РН III стадии (42,9% против 21,05% у детей с РН I-II стадии).

В динамике наблюдения в период с раннего неонатального до ПКВ 38-40 недель отмечалось резкое снижение количества детей, находящихся на грудном вскармливании с добавлением обогатителя грудного молока, в 3,42 и 1,23 раза в основных группах (таблица 3).

Таблица 3 - Характер вскармливания детей с ЭНМТ

Показатели	1-я группа (n=42)	2-я группа (n=43)	p
Ранний неонатальный период			
Грудное вскармливание, %	47,83	79	$p_{1-2}=0,015$
Искусственное вскармливание, %	52,17	21	$p_{1-2}=0,008$
1 месяц жизни			
Грудное вскармливание, %	42,85	65,12	
Искусственное вскармливание, %	35,71	20,93	$p_{1-2}=0,04$
ПКВ 38-40 недель			
Грудное вскармливание, %	19	34,88	
Искусственное вскармливание, %	35,71	27,9	

Примечание:  $p_{1-2}$  – уровень значимости различий между группами детей (критерий Стьюдента):

1 – дети, родившиеся в сроке гестации 22 – 27 недель, 2 - дети, родившиеся в сроке гестации 28 – 31 недели.

В копрофильтратах у всех недоношенных детей в динамике постнатального периода отмечалось повышение концентрации IFN- $\gamma$  и IL-4, и уменьшение содержания IL-6 и IL-8 на фоне увеличения продукции sIgA, что указывало на развитие гуморального ответа на условно-патогенную микрофлору (таблица 4).

Таблица 4 - Уровень цитокинов и sIgA в копрофильтратах у детей с ЭНМТ в динамике постнатального периода, ME (P25-P75)

Показатели, пг/мл	Возраст	1-я группа (n=42)	2-я группа (n=43)	3-я группа (n=25)	p
IFN- $\gamma$	1 мес.	6,32(5,48-7,06)	5,37(4,95-5,84)	5,68(0-5,89)	$p_{1-3, 2-3}=0,0001$ $p_{1-2}=0,09$
	ПКВ 38-40	6,22(5,23-7,27)	5,79(5,16-8,0)		$p_{1-3, 2-3}=0,0001$
IL-6	1 мес.	2,94(2,89-3,23)	3,1293,02-3,230	6,12(5,54-6,47)	$p_{1-3, 2-3}=0,0001$ $p_{1-2}=0,012$
	ПКВ 38-40	3,06(2,89-3,13)	3,12(2,89-3,29)		$p_{1-3}=0,06$ $p_{2-3}=0,03$
IL-8	1 мес.	2,31(2,3-2,48)	2,22(2,18-2,55)	5,81(2,82-5,9)	$p_{1-3, 2-3}=0,0001$
	ПКВ 38-40	2,44(2,2-3,85)	2,56(2,24-2,82)		$p_{2-3}=0,001$
IL-4	1 мес.	23,95 (16,69-34,08)	12,47 (2,31-60,18)	4,33(3,24-4,48)	$p_{1-3, 2-3}=0,010$
	ПКВ 38-40	32,33 (20,88-61,48)	35,39 (27,27-50,81)		$p_{1-3, 2-3}=0,001$
sIgA, г/л	1 мес.	10,44 (8,89-10,97)	9,7(9,58-10,71)	1,08(1,03-3,36)	$p_{1-3, 2-3}=0,0001$
	ПКВ 38-40	10,03 (5,97-11,12)	8,77(6,5-10,02)		$p_{1-3, 2-3}=0,0001$

Примечание:  $p_{1-2}$  – уровень значимости различий между группами детей (критерий Манна-Уитни): 1 – дети, родившиеся в сроке гестации 22 – 27 недель, 2 - дети, родившиеся в сроке гестации 28 – 31 неделя, 3- группа сравнения.

Нарушение микробиоценоза желудочно-кишечного тракта на фоне незрелости иммунной системы может приводить к ухудшению клинического состояния ребенка и низкой эффективности традиционного лечения. К моменту перевода на этап ранней реабилитации у недоношенных детей с ЭНМТ на фоне системной антибактериальной терапии установлено нарушение кишечной микробиоты в 71,5 и 70% случаев детей обеих групп (рисунок 1).

По достижению ПКВ 38-40 недель у детей от сверхранних преждевременных родов частота выявления нарушения микробного пейзажа увеличилась в 1,4 раза, а у детей от ранних преждевременных родов сохранилась на прежнем уровне (100% и 75,8%,  $p=0,005$  в 1-й и 2-й группах соответственно).

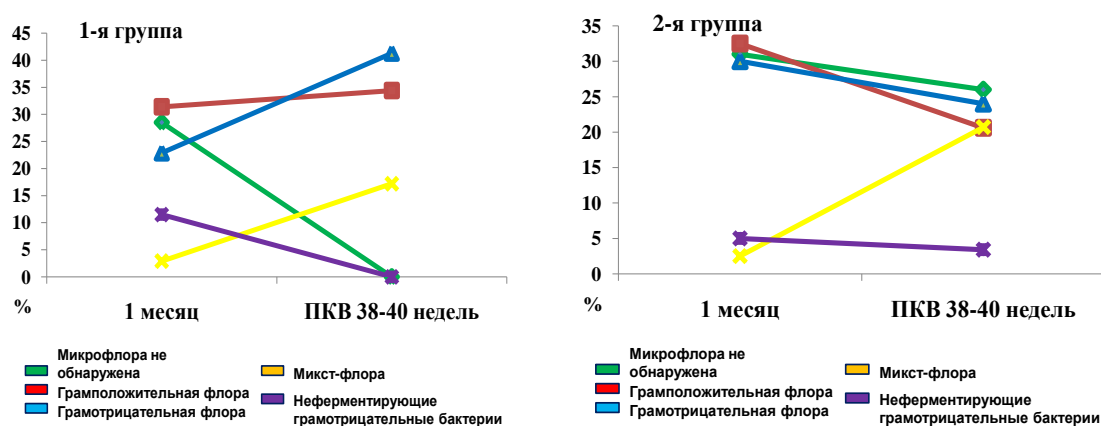


Рисунок 1 - Характер микробной колонизации кишечника детей с ЭНМТ.

В ходе исследования была проведена оценка состояния иммунной системы детей, сформировавших БЛД и РН различной степени тяжести, в зависимости от ГВ (таблица 5).

Таблица 5 - Популяционный состав лимфоцитов пуповинной крови недоношенных детей, сформировавших впоследствии БЛД, МЕ (P25-P75)

	БЛД тяжелой степени (группы 1А (n=17) и 2А (n=9))	БЛД средней и легкой степени (группы 1В (n=18) и 2В (n=24))	Дети с ЭНМТ без БЛД (группы 1С (n=7) и 2С (n=9))	p
Показатели	Дети от сверхранных преждевременных родов (22-27 недель)			
	Дети от ранних преждевременных родов (28-31 неделя)			
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	7,0(6,4-12,0)	11,85(7,15-17,45)	5,0(3,78-6,4)	p <sub>1-3</sub> =0,02, p <sub>2-3</sub> =0,001
	6,6(4,7-6,9)	8,7(6,05-12,5)	9,0(5,5-9,9)	
Лимфоциты, %	68,5(56,25-73,0)	78,0(70,3-81,50)	71,0(65,0-75,0)	
	75,5(68,8-80,3)	69,0(54,75-75,0)	65,5(60,5-70,5)	
CD4, %	31,0(24,0-38,0)	41,5(28,3-56,0)	23,0(18,0-25,5)	p <sub>1-2</sub> =0,01, p <sub>2-3</sub> =0,001
	33,0(25,5-35,0)	32,5(26,75-38,0)	21,0(18,5-31,0)	
CD8, %	11,0(9,0-13,0)	15,5(11,8-16,0)	9,0(7,5-13,5)	p <sub>1-2</sub> =0,06, p <sub>1-3</sub> =0,048
	12,0(10,5-16,5)	14,5(11,5-11,75)	13,0(11-14)	
CD16/56, %	8,0(4,0-10,0)	3,0(2,5-3,5)	2,0(2,0-3,0)	p <sub>1-2</sub> =0,048, p <sub>1-3</sub> =0,048
	7,0(3,75-11,75)	5,5(3,0-10,5)	6,0(5,5-9,0)	
CD25/CD4, %	3,0(2,0-5,0)	5,5(2,75-9,0)	2,0(1,0-3,0)	p <sub>1-2</sub> =0,05, p <sub>2-3</sub> =0,05
	4,0(2,5-5,5)	4,0(3,0-4,5)	2,5(1,75-4,0)	

Примечание: p – уровень значимости различий между группами детей (критерий Манна-Уитни): 1 и 4 группы – дети, сформировавшие БЛД тяжелой степени, 2 и 5 группы - дети, сформировавшие БЛД легкой и средней степени тяжести, 3 и 6 группы – дети без БЛД.

При формировании тяжелой БЛД у детей с ГВ 22-27 недель отмечалась активация



клеточного звена иммунной системы, проявляющаяся увеличением популяций Т-лимфоцитов в пуповинной крови детей по сравнению с недоношенными детьми без БЛД. По достижению ПКВ 38-40 недель у детей от сверхранных преждевременных родов с БЛД III степени регистрировалось сохранение высокого уровня NK-клеток (22(10,5-24,5)% против 8,5(7,3-10)% детей без БЛД,  $p=0,01$ ) и снижение численности Т-лимфоцитов (1,74(1,52-2,53) против 2,36(2,32-2,41)  $10^9/л$ ,  $p_{1A-1C}=0,025$ ), а также Т-хелперов (1,05(0,84-1,57) против 1,71(1,63-1,76)  $\times 10^9/л$ ,  $p_{1A-1C}=0,010$ ). У детей ГВ 28-31 недели вне зависимости от степени тяжести БЛД значимых различий в показателях адаптивного иммунитета не отмечалось.

Состояние врожденного иммунитета у детей ГВ 22-27 недель вне зависимости от степени тяжести БЛД, характеризовалось достоверным уменьшением количества  $CD14^+HLA-DR^+$  клеток в возрасте 1 месяца жизни и на уровне тенденции в ПКВ 38-40 недель. Снижение уровня экспрессии молекул адгезии ( $CD14^+CD64^+$ ) регистрировалось только у детей с тяжелой БЛД (рисунок 2).

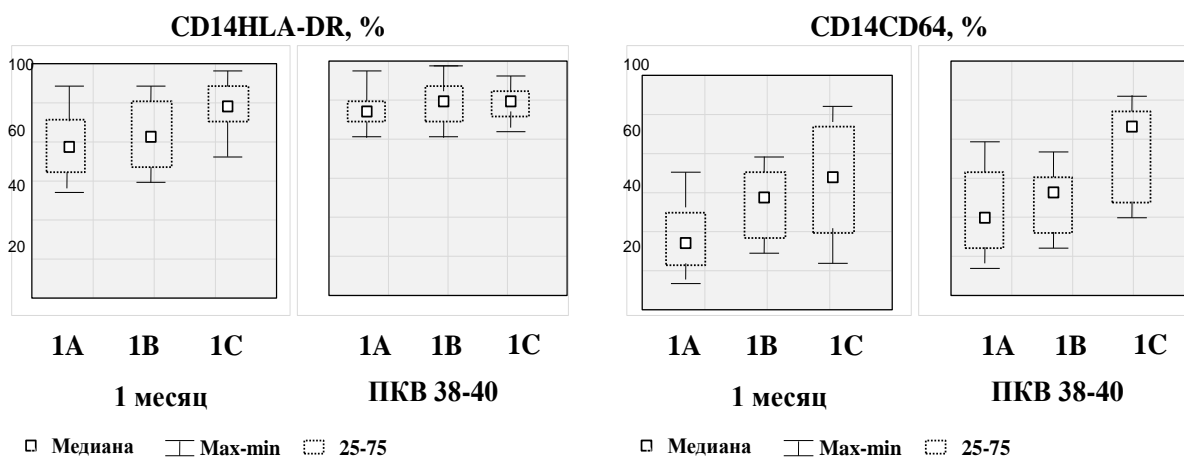


Рисунок 2- Содержание молекул активации у детей с ЭНМТ с БЛД.

Полученные данные свидетельствуют о преобладании в популяции клеток, имеющих сниженную способность моноцитов к участию в процессах межклеточного взаимодействия и антигенной презентации.

При исследовании уровня цитокинов у всех детей с БЛД от сверхранных преждевременных родов отмечалась повышенная продукция ИЛ-6 и ИЛ-8 в пуповинной крови (рисунок 3).

В динамике неонатального периода содержание ИЛ-6 значительно снижалось и не отличалось от показателей детей с ЭНМТ без БЛД, а концентрация ИЛ-8 сохранялась на достоверно высоком уровне.

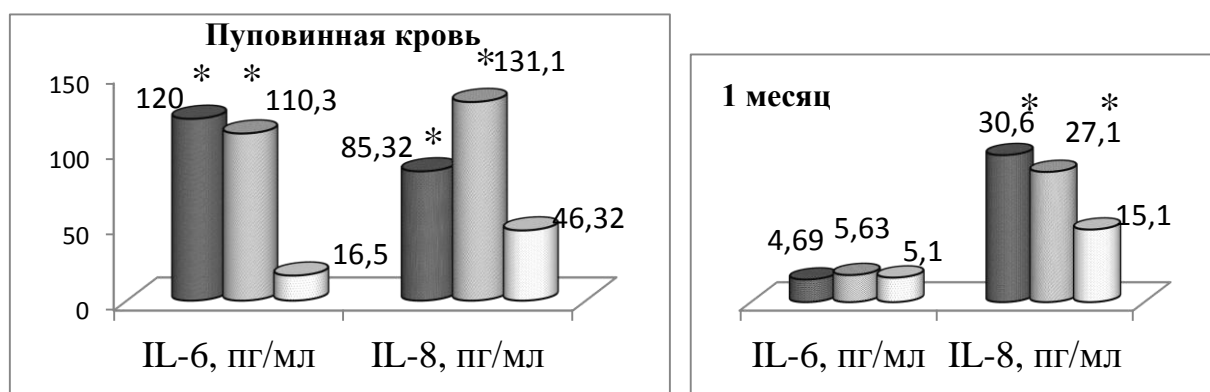


Рисунок 3 - Содержание провоспалительных цитокинов у детей с ЭНМТ и БЛД.

У детей ГВ 28-31 недели с БЛД наблюдалось повышенное содержание  $CD14^+HLA-DR^+$  - моноцитов в пуповинной крови (58 (34-64,5)% и 33 (21-47,5)% и 14 (13-19,5)% ( $p_{2A-2C}, 2B-2C=0,010$ ). Концентрация IL-8 у детей с тяжелой БЛД на протяжении периода новорожденности сохранялась на высоком уровне (126,16 (25,9-272,0) пг/мл и 24,37 (13,6-47,13) пг/мл и 25,9 (19,1-37,94) пг/мл – в пуповинной крови ( $p_{2A-2C}=0,015$ ) и 57,68 (36,53-72,96) пг/мл и 19,77 (15,96-25,44) пг/мл и 12,77 (10,49-13,67) пг/мл – в 1 месяц жизни ( $p_{2B-2C}=0,010$ )).

В пуповинной крови новорожденных с ЭНМТ, сформировавших РН III стадии, установлено снижение молекул CD64/CD14 на моноцитах статистически значимое у новорожденных ГВ 22-27 недели и на уровне тенденции у детей ГВ 28-31 недели (таблица 6).

Таблица 6 - Маркеры активации моноцитов и уровень цитокинов пуповинной крови детей с ЭНМТ, сформировавших впоследствии РН III стадии, ME (P25-P75)

	Дети ГВ 22-27 недель		Дети ГВ 28-31 недели		p
	РН III стадии (1D-группа, n=14)	РН I-II стадии (1E- группа, n=19)	РН III стадии (2D- группа, n=8)	РН I-II стадии (2E- группа, n=30)	
CD11b/CD14, %	31,0 (15,0-60,0)	50,0 (11,0-68,0)	56,0 (46,7-61,5)	35,0 (21,5-48,5)	$p_{2D-2E}=0,045$
CD64/CD14, %	8,0 (7,5-16,75)	42,0 (20,0-44,0)	20,0 (15,0-32,0)	42,0 (38,0-44,0)	$p_{1D-1E}=0,0001$ $p_{2D-2E}=0,07$
CD14/HLA-DR, %	39,0 (15,0-58,0)	25,0 (15,75-42,75)	56,5 (43,75-63,3)	28,0 (18,5-46,75)	$p_{2D-2E}=0,01$
IL-6, пг/мл	20,75 (17,32-105,9)	139,36 (101,5-155,5)	6,04 (3,37-15,0)	9,84 (4,07-19,85)	$p_{1D-1E}=0,014$
IFN- $\gamma$ , пг/мл	13,32 (12,36-14,27)	11,26 (10,46-12,29)	0,0 (0,0-1,95)	10,33 (6,35-11,76)	$p_{2D-2E}=0,004$

Примечание: p – уровень значимости различий между группами детей (критерий Манна-Уитни): 1 и 3 группы – дети, сформировавшие РН III стадии, 2 и 4 группы - дети, сформировавшие РН I и II стадии.

Повышение уровня экспрессии  $CD14^+HLA-DR^+$  -клеток регистрировалось у новорожденных ГВ 28-31 недели.

У всех детей с ЭНМТ, сформировавших РН III стадии, достоверных различий в показателях адаптивного иммунитета при рождении не выявлено.

В содержании цитокинов обнаружено снижение продукции ИЛ-6 у детей с РН III стадии ГВ 22-27 недель и  $IFN-\gamma$  – у недоношенных ГВ 28-31 недели (0,0 (0,0-1,95) пг/мл против 10,33 (6,35-11,76) пг/мл,  $p=0,004$ ).

К завершению неонатального периода формирование РН III стадии у детей от сверхранних преждевременных родов сопровождалось уменьшением численности В-лимфоцитов, Т-хелперов, регуляторных  $CD4^+CD25^+$ -клеток и  $CD14^+CD64^+$  -моноцитов (рисунок 4).

К ПКВ 38-40 недель сохранялось выявленное снижение количества Т-хелперов, уровня экспрессии рецепторов  $CD4^+CD25^+$  и  $CD14^+CD64^+$ , отмечалось повышение абсолютного числа НК-клеток и  $CD14^+HLA-DR^+$ -моноцитов.

У детей с РН III стадии ГВ 28-31 недели в показателях адаптивного иммунитета регистрировалось повышение доли В-лимфоцитов (37 (31,5-42,5)% и 26 (19,5-29)% детей с РН I-II стадии,  $p=0,017$ ).

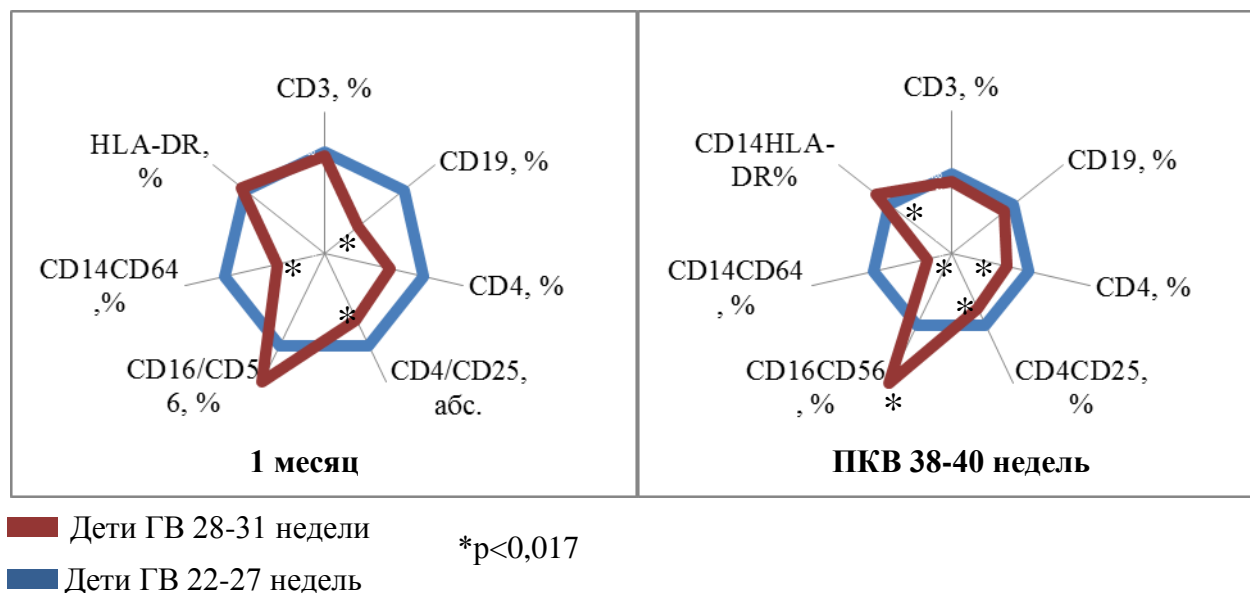


Рисунок 4 - Иммунологические показатели недоношенных детей РН III стадии в 1 месяц и ПКВ 38-40 недель.

Врожденный иммунитет характеризовался значимым снижением доли  $CD14^+CD64^+$ -клеток (11,0 (8,5-18,0)% против 30 (14,25-55,75)%,  $p=0,025$ ), повышением абсолютного количества  $CD14^+HLA-DR^+$ -моноцитов (0,61 (0,47-0,91) против 0,51 (0,33-0,58)  $\times 10^9/л$ ,  $p=0,025$ ).

При проведении корреляционного анализа обнаружены положительные и отрицательные взаимосвязи показателей врожденного и адаптивного иммунитета у детей с ЭНМТ с тяжелой БЛД и РН III стадии (рисунок 5).

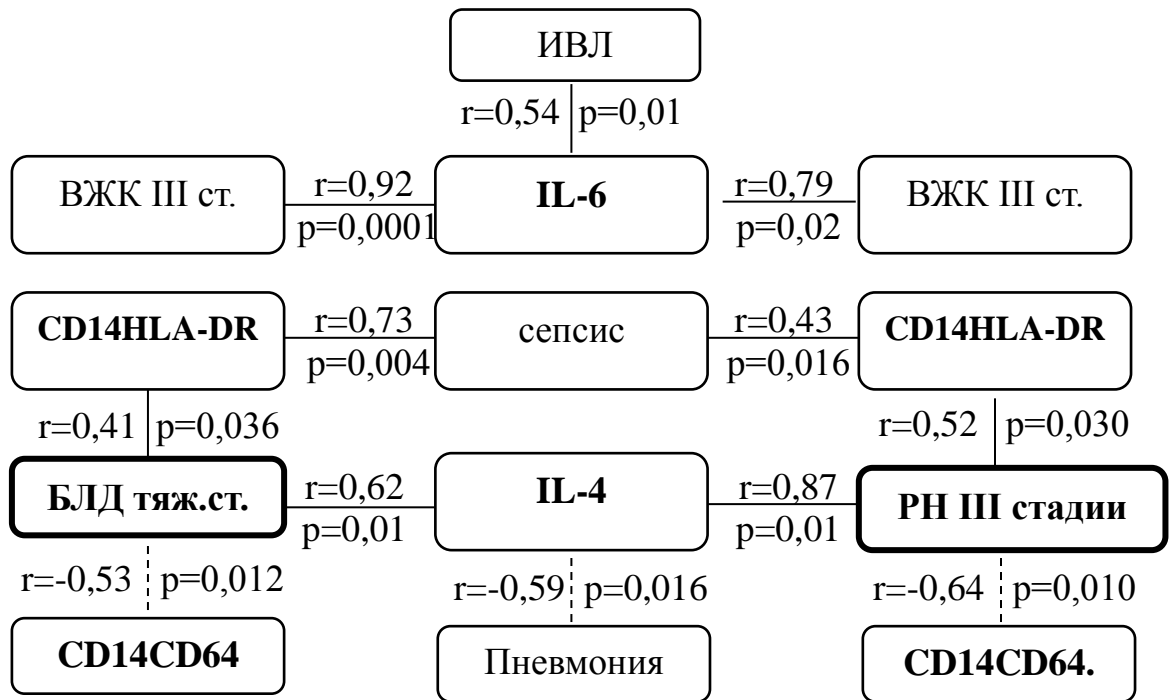


Рисунок 5 - Корреляционные связи показателей иммунной системы с наличием БЛД и РН.

Незрелость фагоцитарного звена иммунной системы и сниженная продукция противовоспалительного ИЛ-4 предопределяет развитие инфекционного процесса. Перенесенная гипоксия и длительное нахождение на искусственной вентиляции легких на фоне дефицита сурфактанта, генетических факторов, гипероксигенация организма вызывают усиленную продукцию медиаторов воспаления. Данный процесс оказывает прямое повреждающее действие на мембрану альвеолярных капилляров, моделирует иммунную защиту, опосредует острое повреждение тканей легких и сетчатки глаза, инициируя или усиливая воспалительный каскад на фоне инфекционного процесса, а также индуцируют процессы свободно-радикального окисления (Кузьменко Г.Н. и соавт. 2009). В дальнейшем начинаются репаративные процессы поврежденных органов и гиперпродукция интерстициальных фибробластов, ведущей к фиброзу и в последующем формировании БЛД и РН.

С использованием метода дискриминантного анализа разработаны способы прогнозирования высокого риска прогрессирования таких заболеваний, как БЛД и РН III стадии у детей с ЭНМТ.

Способ прогнозирования формирования пороговой стадии ретинопатии недоношенных у детей с ЭНМТ в раннем неонатальном периоде, заключающийся в определении процентного

содержание CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> -моноцитов, уровня IL-6 и IL-4 в пуповинной крови с последующим вычислением прогностического индекса (PI) по формуле:

$$PI = -0,138 \times X_1 - 0,015 \times X_2 - 3,41 \times X_3 + 6,19, \text{ где}$$

$X_1$  – CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> -моноциты, %;

$X_2$  – содержание IL-6, пг/мл;

$X_3$  – содержание IL-4, пг/мл;

6,19 – Const

При PI более 0 прогнозируют высокий риск реализации пороговой ретинопатии, а при PI менее 0 делают заключение о низком риске прогрессирования данной патологии. Чувствительность предлагаемого способа составляет 86,4%, специфичность – 91,9%. Эффективность способа – 89,15%.

Способ прогнозирования развития пороговой ретинопатии недоношенных у детей с ЭНМТ, заключающийся в определении массы тела при рождении, пола ребенка, содержания гемоглобина в периферической крови на 1-е сутки жизни и продолжительности нахождения ребенка в ОРИТН с последующим вычислением прогностического индекса (PI) по формуле:

$$PI = 1,804 \times X_1 - 0,0095 \times X_2 - 0,0285 \times X_3 + 0,0963 \times X_4 + 9,563, \text{ где}$$

$X_1$  – пол ребенка (женский/мужской) (1/0);

$X_2$  – масса тела при рождении, г;

$X_3$  – содержание гемоглобина в периферической крови на 1-е сутки жизни, г/л;

$X_4$  – количество суток, проведенных в ОРИТН;

9,563 – Const.

При PI более 0 прогнозируют высокий риск реализации РН III стадии, а при PI менее 0 делают заключение о низком риске прогрессирования данной патологии.

Специфичность предлагаемого способа составляет 80,6% чувствительность – 87,2%. Эффективность способа – 83,9%.

Способ прогнозирования развития БЛД тяжелой степени у детей с ЭНМТ в неонатальном периоде, заключающийся в определении относительного содержания CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> - моноцитов и абсолютного количества CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> - лимфоцитов в пуповинной крови с учетом развития анемии тяжелой степени, требующей проведения гемотрансфузии, и последующим вычислением прогностического индекса (PI) по формуле:

$$PI_1 = 0,074 \times X_1 + 6,72 \times X_2 + 3,27 \times X_3 - 5,31, \text{ где}$$

$X_1$  – относительное содержание CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> - моноцитов крови, %;

$X_2$  – абсолютное количество CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> - лимфоцитов,  $10^9$ /л;

$X_3$  – наличие/отсутствие анемии тяжелой степени в неонатальном периоде, требующей проведения гемотрансфузии (1/0);

5,31- Const.

При  $PI_1 < 0$  прогнозируют высокий риск реализации БЛД тяжелой степени, а при  $PI_1 > 0$  делают заключение о низком риске развития данного патологического состояния у недоношенных детей с ЭНМТ. Чувствительность предлагаемого способа составляет 90%, специфичность – 88,9%. Эффективность способа – 89,5%.

Разработанные способы позволили наряду со стандартными протоколами обследования рекомендовать дополнительные лабораторные исследования новорожденных с ЭНМТ для определения групп детей высокого риска (рисунок б).

Алгоритм позволяет в неонатальном периоде объективно оценить тактику выхаживания, своевременно назначить адекватную терапию и скорректировать схему наблюдения.

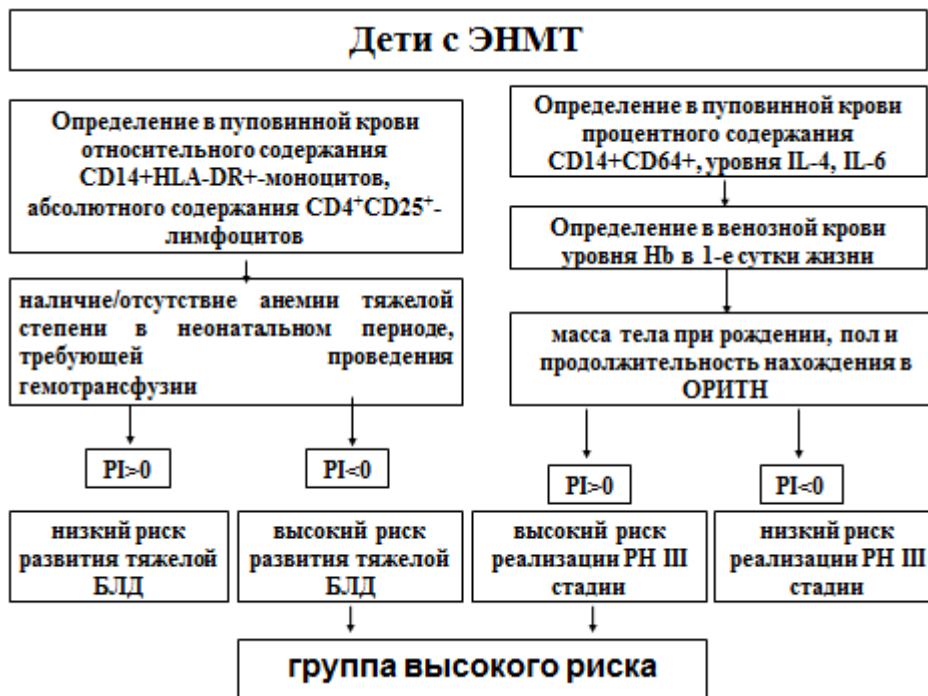


Рисунок 6 - Алгоритм дополнительного обследования детей с ЭНМТ в неонатальном периоде для прогнозирования развития осложнений постнатального периода.

## ВЫВОДЫ

1. Дети с ЭНМТ, родившиеся в сроке сверхранних преждевременных родов, характеризуются высокой частотой развития в неонатальном периоде церебральной ишемии III степени (100%), пневмонии (64,3%), сепсиса (35,71%). К ПКВ 38-40 недель у этих детей в 2 раза чаще формируется тяжелая форма патологии (БЛД тяжелой степени – 54,7%, РН III стадии – 38%), чем у детей 28-31 недели ГВ.
2. Особенности динамики показателей иммунной системы детей с ЭНМТ в постнатальном периоде в большей степени определяют маркеры активации врожденного

(CD14<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>, CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> -моноциты, IL-4, IL-8) и адаптивного (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup>) иммунитета.

3. Состояние локального иммунитета недоношенных детей от сверхранных и ранних преждевременных родов характеризуется повышенным уровнем IFN- $\gamma$  при сниженном содержании IL-6 и IL-8 в возрасте 1 месяца жизни, усилением продукции IL-4 и sIgA в копрофильтратах в динамике постнатального периода.
4. Бронхолегочная дисплазия тяжелой степени у детей ГВ 22-27 недель формируется на фоне повышенной концентрации IL-8 и снижения способности моноцитов к адгезии и презентации антигена в возрасте 1 месяца жизни; повышенным содержанием НК-клеток, уменьшением количества CD3<sup>+</sup>- и CD4<sup>+</sup> -лимфоцитов, а также CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> - моноцитов в ПКВ 38-40 недель.
5. Формирование РН III стадии у детей от сверхранных преждевременных родов сопряжено со снижением численности В-лимфоцитов в возрасте 1 месяца жизни. Уменьшением абсолютного количества Т-хелперов, регуляторных CD4CD25 популяций и CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> -моноцитов – в неонатальном периоде и ПКВ 38-40 недель. Повышением количества НК-клеток и уровня экспрессии CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>- моноцитов к ПКВ 38-40 недель.
6. Предикторами развития БЛД тяжелой степени является содержание CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>- моноцитов и CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> - лимфоцитов в пуповинной крови и наличие анемии тяжелой степени, требующей проведения повторных гемотрансфузий; РН III стадии – уровень IL-4, IL-6, CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> -моноцитов пуповинной крови, пол ребенка, масса тела, количество суток проведенных в ОРИТН и уровень гемоглобина в периферической крови при рождении.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При высоком риске реализации БЛД у недоношенных с ЭНМТ с целью оценки тяжести данной патологии необходимо проводить определение в пуповинной крови концентрации CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> -моноцитов и CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> -лимфоцитов с учетом наличия анемии тяжелой степени в неонатальном периоде, требующей проведения повторных гемотрансфузий, с последующим вычислением прогностического индекса.
2. Для прогнозирования риска реализации РН III стадии всем детям, родившимся с ЭНМТ, рекомендуется определение процентного содержания CD14<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> -моноцитов, уровня IL-6 и IL-4 в пуповинной крови, гемоглобина периферической крови в 1-е сутки жизни с учетом пола ребенка, массы тела при рождении, продолжительности нахождения в ОРИТН с последующим вычислением прогностического индекса.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Устьянцева, Л.С. Иммунологические показатели пуповинной крови детей с экстремально низкой массой тела в зависимости от гендерной принадлежности / Л.С.Устьянцева, Г.Н.Чистякова, В.А.Ляпунов и др. // **Российский иммунологический журнал.** – 2015. – № 1. – С.191-192.
2. Устьянцева, Л.С. Изменение микробиоценоза кишечника у детей с экстремально низкой массой тела в динамике постнатального периода в зависимости от гестационного возраста /Л.С.Устьянцева, Г.Н.Чистякова, И.И. Ремизова и др. // **Российский иммунологический журнал.** – 2015. – № 2. -С. 706-708.
3. Чистякова, Г.Н. Оценка состояния сердечно-сосудистой системы детей, родившихся от женщин с хронической артериальной гипертензией / Г.Н. Чистякова, И.И.Ремизова, И.А.Газиева, Л.С.Устьянцева // **Педиатрия.** – 2015. – № 2. – С.8-12.
4. Ляпунов, В.А. Влияние продукции цитокинов на уровень экспрессии CD23+ лимфоцитами крови / В.А.Ляпунов, Г.Н.Чистякова, Л.С.Устьянцева и др. // **Российский иммунологический журнал.** – 2015. – № 1. – С.129-130.
5. Чистякова, Г.Н. Особенности иммунной системы детей, родившихся у женщин с гестационным сахарным диабетом / Г.Н.Чистякова, И.И.Ремизова, И.А.Газиева, В.А.Ляпунов, Л.С.Устьянцева // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.** – 2015. – №2. – С.42-48.
6. Ремизова, И.И. Иммунологические показатели пуповинной крови детей, родившихся от женщин с урогенитальной инфекцией / И.И.Ремизова, Г.Н. Чистякова, И.А.Газиева, В.А.Ляпунов, Л.С.Устьянцева // **Медицинская иммунология.** – 2015. – №3. – С.271-278.
7. Ляпунов, В.А. Уровень экспрессии маркеров активации лимфоцитов и моноцитов в образцах пуповинной крови / В.А.Ляпунов, И.И.Ремизова, Г.Н. Чистякова, Л.С.Устьянцева // **Российский иммунологический журнал.** – 2015. – №2.- С. 502-504.
8. Якорнова, Г.В. Динамика провоспалительных цитокинов у детей, родившихся у женщин с осложненной беременностью, в зависимости от течения раннего периода адаптации / Г.В.Якорнова, И.И.Ремизова, Г.Н.Чистякова, Л.С. Устьянцева // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.** – 2015. - № 4. – С.50-56.
9. Устьянцева, Л.С. Оценка уровня эритропоэтина и ферритина у глубоко недоношенных детей в динамике неонатального периода / Л.С.Устьянцева, Г.Н. Чистякова, И.И.Ремизова и др. // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.** – 2015. - № . – С.163-164.
10. Чистякова, Г.Н. Гендерные клинико-иммунологические особенности детей с экстремально низкой массой тела при рождении / Г.Н.Чистякова, Л.С. Устьянцева,



- И.И.Ремизова и др. // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.** – 2016.- № 5. – С.24-29.
11. Устьянцева, Л.С. Иммунологические параметры пуповинной крови детей, рожденных в сроке сверхранних преждевременных родов / Л.С.Устьянцева, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова и др.//**Клиническая лабораторная диагностика.** – 2016. – Т.61.– №9. – С.606.
  12. Устьянцева, Л.С. Продукция IFN- $\gamma$  и IL-4 у детей с экстремально низкой массой тела в зависимости от микробной колонизации кишечника в постнатальном периоде / Л.С.Устьянцева, И.И.Ремизова, Г.Н.Чистякова и др.// **Российский иммунологический журнал.** – 2016. – № 2 . – С.127-129.
  13. Чистякова, Г.Н. Популяционный состав лимфоцитов пуповинной крови и продукция цитокинов у детей с экстремально низкой массой тела, родившихся в результате использования вспомогательных репродуктивных технологий/ Г.Н.Чистякова, Л.С.Устьянцева, И.И.Ремизова и др. // **Российский иммунологический журнал.** – 2016. – № 2 . – С.125-126.
  14. Ремизова, И.И. Особенности фетотипического состава и функциональной активности иммунокомпетентных клеток пуповинной крови в зависимости от гестационного возраста/ И.И.Ремизова, Г.Н.Чистякова, В.А.Ляпунов, В.А.Черешнев, Л.С.Устьянцева, И.А. Газиева // **Медицинская иммунология.** – 2016. – №3. – С.291-298.
  15. Устьянцева Л.С. Исходы детей с экстремально низкой массой тела в динамике постнатального периода до достижения постконцептуального возраста 38–40 недель в зависимости от уровня гемоглобина при рождении/ Л.С.Устьянцева, В.А.Ляпунов // **Журнал акушерства и женских болезней.** – 2016. - Т. LXV.- С.27.
  16. Ляпунов В.А. Особенности популяционного состава лимфоцитов и уровень экспрессии рецептора TLR 2 моноцитами пуповинной крови/ В.А.Ляпунов, Л.С.Устьянцева // **Журнал акушерства и женских болезней.** – 2016. - Т. LXV. - С.80.
  17. Устьянцева, Л.С. Особенности врожденного и адаптивного иммунитета недоношенных детей с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы /Л.С.Устьянцева, Г.Н.Чистякова, И.И.Ремизова и др. // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.-** 2017.- № 3.- С.59-65.
  18. Чистякова, Г.Н. Особенности врожденного иммунитета недоношенных детей с тяжелым гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы / Г.Н.Чистякова, Л.С.Устьянцева, И.И.Ремизова // **Российский иммунологический журнал** – 2017. – №3. – С.564-565.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ЭНМТ	экстремально низкая масса тела
РДС	респираторный дистресс-синдром
БЛД	bronхолегочная дисплазия
ПКВ	постконцептуальный возраст
РН	ретинопатия недоношенных
ГВ	гестационный возраст
ЦНС	центральная нервная система
ОРИТН	отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных

*На правах рукописи*

**УСТЬЯНЦЕВА**

**Людмила Станиславовна**

**КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОСОБЕННОСТИ ВРОЖДЕННОГО  
И АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ДЕТЕЙ С ЭКСТРЕМАЛЬНО НИЗКОЙ  
МАССОЙ ТЕЛА НА ЭТАПЕ РАННЕЙ РЕАБИЛИТАЦИИ**

14.01.08 – Педиатрия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по решению диссертационного совета ФГБОУ ВО «УГМУ»  
Минздрава России от 06.03.2018г.  
Подписано в печать 06.03.2018г. Формат 60x84/16. Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз.  
Отпечатано в ООО «Оргтехника-Сервис» 620109 Екатеринбург, ул. Крауля, 8.

