

На правах рукописи

СКАРЕДНОВА ЕЛЕНА ЮРЬЕВНА

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ,
ПЕРЕНЕСШИХ АСФИКСИЮ РАЗЛИЧНОЙ
СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ**

14.01.08 – педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2011

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

Научный руководитель

доктор медицинских наук, профессор **Ковалев Владислав Викторович**

Научный консультант

доктор медицинских наук, доцент **Чистякова Гузель Нуховна**

Официальные оппоненты

доктор медицинских наук **Громада Наталья Евгеньевна**

доктор медицинских наук, профессор **Романенко Владислав Александрович**

Ведущая организация: Федеральное государственное учреждение «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации г. Москва.

Защита диссертации состоится «25» мая 2011 г. в 10 часов на заседании Совета по защите докторских диссертаций Д 208.102.02, созданного при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития России (620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17), с авторефератом – на сайте УГМА www.usma.ru.

Автореферат разослан «13» апреля 2011 г.

Ученый секретарь Совета
по защите докторских диссертаций
доктор медицинских наук, профессор



Гришина И.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Проблема изучения перинатальных последствий у детей, перенесших при рождении асфиксию, остается актуальной, что обусловлено высоким уровнем летальности и неврологических последствий.

По данным экспертов ВОЗ, первое ранговое место в структуре перинатальной смертности принадлежит внутриутробной гипоксии и асфиксии в родах, которые составляют около 48%, при этом 1,0-1,5% родившихся детей переносят асфиксию плода средней или тяжелой степени с развитием последующей гипоксически-ишемической энцефалопатии и поражением других органов (Баранов А.А. и соавт. 2007, Суханова Л.П. 2008, Шабалов Н.П. 2009, Фомичев М.В. и соавт. 2007, Jenik A.G. et al. 2000, Raju T. 2003).

К моменту рождения головной мозг ребенка является незрелым. Главным повреждающим фактором у новорожденных является гипоксия, которая приводит как к гипоксемии, так и к ишемии мозга, предрасполагающим к развитию ППЦНС. Однако не у всех детей, перенесших гипоксию, наблюдаются тяжелые неврологические последствия (Волосовец А.П. и соавт. 2008). Нивелирование повреждающего действия гипоксии на многие системы организма зависит от эффективности работы стресс-лимитирующих систем, важнейшей из которых является иммунная система (Симбирцев А.С. 2002). Состояние иммунитета на момент рождения определяет выраженность адаптивных реакций новорожденного, кроме того, сама иммунная система является одним из важнейших механизмов адаптации организма и мощным фактором, направленным на сохранение его антигенного гомеостаза. Важным информативным показателем состояния иммунной системы новорожденного ребенка в раннем периоде адаптации является уровень продукции цитокинов (Стефани Д.В. и соавт. 1996, Шабалов Н.П. 2003).

Последствия перенесенной асфиксии часто остаются недооцененными, особенно в случае рождения ребенка в состоянии умеренной асфиксии. Современные инструментальные способы диагностики достаточно трудоемки и чаще всего используются при наличии неврологических симптомов, которые не все-

гда имеют четкую и ясную картину, и развитие их может быть отсрочено во времени (Буркова А.С. и соавт. 2006). Определение клинико-иммунологических особенностей периода ранней адаптации доношенных новорожденных, перенесших асфиксию различной степени тяжести, позволит улучшить перинатальные исходы и определить резерв снижения заболеваемости детей.

Целью исследования явилась разработка модели ранней диагностики и прогнозирования постгипоксических осложнений на основе изучения клинико-иммунологических особенностей доношенных детей, перенесших асфиксию различной степени тяжести.

Задачи исследования:

1. Оценить клинические особенности течения раннего периода постнатальной адаптации детей, родившихся в состоянии асфиксии различной степени тяжести.

2. Исследовать биохимические и иммунологические параметры пуповинной и периферической крови детей, перенесших асфиксию различной степени тяжести.

3. Разработать математическую модель ранней диагностики и прогнозирования постгипоксических нарушений ЦНС и их последствий у новорожденных с асфиксией.

Научная новизна. Установлено, что развитие асфиксии у новорожденных сопровождается повышенной продукцией медиаторов воспаления (IL-6, IL-8, IFN- γ , С-реактивного белка, ферритина и лактоферрина), а также снижением уровня противовоспалительных цитокинов (IL-4 и IL-10), содержания конечных стабильных метаболитов оксида азота в пуповинной крови.

Определены наиболее информативные лабораторные показатели, отражающие тяжесть постасфиксических осложнений в периоде адаптации у новорожденных (уровень pO_2 , HCO_3^- , BE_{ef} , BE_b , tCO , содержание IL -6, IL-8, IFN- γ , IL-4, IL-10, уровень нитратов и нитритов в пуповинной крови) и выделены диагностические критерии формирования перинатального поражения ЦНС (IL -6, IL-8 и общий NO_2).

Практическая значимость. Предложен способ ранней диагностики перинатального поражения ЦНС у доношенных детей, перенесших асфиксию умеренной степени тяжести при рождении по стартовым показателям пуповинной крови. Разработан алгоритм лабораторного обследования новорожденных, родившихся в состоянии асфиксии умеренной степени тяжести.

Положения, выносимые на защиту:

1. Клинической особенностью течения периода ранней адаптации у детей, перенесших асфиксию различной степени тяжести, является синдром угнетения ЦНС. Для новорожденных с асфиксией тяжелой степени характерно: более низкая масса тела при рождении и наличие гемодинамических нарушений. Для объективной оценки степени тяжести перинатальной асфиксии необходимо определение в пуповинной крови pO_2 , HCO_3 , BE , tCO_2 .

2. Развитие асфиксии у новорожденных сопровождается универсальным механизмом реагирования со стороны иммунной системы в виде повышенной продукции медиаторов воспаления, снижения уровня противовоспалительных цитокинов и содержания конечных стабильных метаболитов оксида азота в пуповинной крови.

3. На основании ряда лабораторных показателей (IL-6, IL-8 и общего NO) в пуповинной крови возможно прогнозирование развития перинатальной патологии ЦНС у детей, перенесших асфиксию умеренной степени тяжести при рождении.

Внедрение результатов исследования в практику. Разработанный способ ранней диагностики перинатального поражения ЦНС по стартовым показателям пуповинной крови доношенных детей, перенесших асфиксию умеренной степени тяжести при рождении, внедрен в практику отделения новорожденных педиатрического стационара и отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных Нижневартковского перинатального центра. Получен патент РФ № 241350 от 10.03.2011 «Способ ранней диагностики перинатального пораже-

ния ЦНС у детей с умеренной асфиксией» (авторы: Ремизова И.И., Чистякова Г.Н., Скареднова Е.Ю., Гагиева И.А.).

Апробация работы. Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на заседаниях Ученого Совета ФГУ «НИИ ОММ» Минздравсоцразвития РФ. Материалы диссертации представлены на X юбилейном Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2009), Городской научно-практической конференции «Актуальные проблемы в современной неонатологии и педиатрии» (Нижевартовск, 2009), III региональном научном Форуме «Мать и дитя» (Саратов, 2009), XIII научном Форуме им. академика В.И. Иоффе с международным участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2009), научно-практической конференции «Лабораторная медицина в свете Концепции развития здравоохранения России до 2020 года» (Москва, 2009).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 18 научных работ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, 2-х глав с изложением результатов собственных исследований, заключения, выводов, списка использованных сокращений и библиографического указателя, включающего 169 источников, в том числе 74 иностранных. Работа иллюстрирована 39 таблицами и 9 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Работа основана на результатах клинико-лабораторного обследования 207 доношенных новорожденных, перенесших при рождении асфиксию различной степени тяжести, и 29 здоровых доношенных новорожденных, родившихся и наблюдавшихся на базе родильного дома Нижевартовского перинатального центра в период 2005-2009 гг. Для выявления факторов, влияющих на рождение детей в состоянии асфиксии, и сопоставления диагнозов, выставленных детям при рождении на основании клинических проявлений и шкалы Апгар, с данными КОС проведен ретроспек-

тивный анализ 100 карт развития детей, родившихся в состоянии асфиксии, которые в зависимости от степени тяжести асфиксии были поделены на три группы, а также обменных карт беременных и историй родов матерей. 62 ребенка обследованы для выполнения поставленных в работе задач, 45 новорожденных составили экзаменационную группу для проверки эффективности способа ранней диагностики перинатального поражения ЦНС у новорожденных с умеренной асфиксией. Иммунологические исследования выполнялись на базе лаборатории иммунологии и клинической микробиологии ФГУ «НИИ ОММ» Минздравсоцразвития РФ, г. Екатеринбург.

При проведении проспективного исследования были сформированы следующие группы:

- 1-я основная группа – новорожденные, родившиеся в состоянии асфиксии умеренной и средней степени тяжести (43 человека). В ходе исследования группа была подразделена на две подгруппы в зависимости от наличия или отсутствия неврологических нарушений: 1-я подгруппа – новорожденные, не имеющие клинических признаков перинатального поражения ЦНС (22 человека), 2-я подгруппа – дети с клиническими признаками поражения ЦНС (21 человек).

- 2-я основная группа – дети, родившиеся в состоянии асфиксии тяжелой степени (19 человек);

- группа сравнения – 29 здоровых доношенных новорожденных, не имевших асфиксии при рождении.

Критериями исключения явились врожденные пороки развития, недоношенность, травматические поражения ЦНС, инфекции TORCH-комплекса у матерей и генерализованные формы инфекций у новорожденных.

Исследование проводилось по единой схеме, предполагавшей изучение соматического, акушерско-гинекологического анамнеза матерей, особенностей течения настоящей беременности, анализ результатов клинического и лабораторного обследования новорожденных. Источником информации о состоянии здоровья женщины во время беременности и родов были «Индивидуальная кар-

та беременной», «История родов» (формы №111/у и №096/у). Данные о новорожденных заносились в историю развития новорожденного (форма №097/у), медицинскую карту стационарного больного (форма № 003/у).

Оценка состояния детей исследуемых групп при рождении проводилась по шкале Апгар, неврологический статус оценивали общепринятыми методами.

Гематологическое исследование периферической крови включало определение гемоглобина, гематокрита, количества форменных элементов периферической крови. Биохимический анализ крови заключался в определении концентрации общего белка, креатинина, мочевины и уровней трансфераз на универсальном автоматическом биохимическом анализаторе «Сапфир 400» (Япония), реагенты НПФ Абрис+ (Россия); уровня билирубина и его фракций в сыворотке крови фотометрическим колориметрическим DCA методом с использованием того же анализатора на реагентах фирмы «HUMAN» (Германия) и ручным модифицированным методом Йендрашика-Грофа на аппарате КФК-3 (Россия) с использованием тест-систем «Вектор-БЕСТ» (Россия).

Определение парциального напряжения газов крови и показателей кислотно-основного состояния (КОС) с оценкой концентрации ионов водорода (pH), парциального напряжения двуокси углерода (pCO₂) и кислорода (pO₂), дефицита оснований (BE), концентрации бикарбоната (HCO₃), степени насыщения крови кислородом (sO₂) проводили на газоанализаторе фирмы «Bayer Rapidlab 348» (США) с использованием реактивов «Chiron Diagnostics».

Для определения уровней медиаторов межклеточного взаимодействия (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α , СРБ, NO) в сыворотке крови использовали метод иммуноферментного анализа. Методика постановки реакции и оценка полученных результатов проводились в соответствии с рекомендациями фирм-изготовителей реагентов.

Ультразвуковое исследование головного мозга проводили по стандартной методике в краниальной и сагиттальной плоскостях в 10 стандартных сечениях через большой родничок черепа с использованием аппарата «Lodgic-400» (Япония). Анализ эхограммы включал оценку состояния паренхимы головного мозга, желу-

дочковой системы, цистерн и субарахноидального пространства, выраженности извилин, наличия кровоизлияний, кист, доплерометрические критерии – измерение индекса резистентности (IR) в передней мозговой артерии. Эхография органов брюшной полости включала определение размеров, формы, контура почек и печени, состояние паренхимы, измерение ширины внутри- и внепеченочных сосудов, IR в магистральных сосудах.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 7.0 для Windows 98, «Statistica 6.0». Данные представлены в виде средней величины и среднеквадратичного отклонения. Для оценки достоверности различий между группами использовали критерий Манна-Уитни, в случае множественных сравнений использовали поправку Бонферрони (различия средних считались статистически достоверными, если уровень значимости не превышал 0,01). Для определения информативности показателей и создания алгоритма диагностики нарушений применяли процедуру дискриминантного анализа. Исследование взаимосвязи между параметрами проводили с помощью корреляционного анализа с вычислением коэффициентов корреляции Спирмена (r). Результаты считались достоверными при уровне значимости $p < 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ данных акушерско-гинекологического анамнеза женщин, а также особенностей течения беременности при проведении ретроспективного и проспективного исследований не выявил значимых факторов, оказывающих впоследствии влияние на степень тяжести асфиксии у новорожденных. Первичная слабость родовых сил, дискоординация родовой деятельности, острая внутриутробная гипоксия плода, а также длительный безводный период и продолжительность родов являются основными факторами, влияющими на рождение детей в состоянии асфиксии.

При сопоставлении диагнозов ретроспективного исследования, выставленных детям при рождении на основании клинических проявлений и шкалы Апгар, с данными КОС было установлено, что клинические проявления, на осно-

вании которых оценивалась степень тяжести асфиксии, не соответствовали параметрам КОС: в 51,7% случаев у новорожденных с тяжелой асфиксией, в 57,5% случаев у детей из группы с умеренной асфиксией и у всех новорожденных с диагнозом «асфиксия легкой степени тяжести».

При оценке показателей кислотно-основного состояния пуповинной крови по данным проспективного исследования выявлены статистически значимые отличия для показателей парциального напряжения углекислого газа, стандартного бикарбоната и избытка буферных оснований, а также общего уровня CO_2 в зависимости от степени тяжести асфиксии (табл. 1).

Таблица 1

Показатели кислотно-основного состояния в пуповинной крови здоровых новорожденных и детей с асфиксией ($M \pm \sigma$)

Показатели	Группа сравнения, здоровые новорожденные, n=29	1-я группа, дети с асфиксией умеренной степени тяжести, n=43	2-я группа, дети с асфиксией тяжелой степени, n=19	P_{1-2}
pH	$7,29 \pm 0,09$	$7,20 \pm 0,11^*$	$6,96 \pm 0,14^*$	0,0001
$p\text{CO}_2$, мм.рт.ст.	$47,08 \pm 9,03$	$53,39 \pm 16,85^*$	$66,03 \pm 26,95^*$	0,016
HCO_3ct , ммоль/л	$22,35 \pm 3,18$	$19,83 \pm 4,60^*$	$12,97 \pm 3,44^*$	0,0001
$\text{BE}_{\text{eсf}}$, ммоль/л	$-3,98 \pm 3,61$	$-8,12 \pm 4,87^*$	$-17,99 \pm 3,25^*$	0,0001
BE_{b} , ммоль/л	$-4,13 \pm 3,32$	$-8,65 \pm 4,56^*$	$-18,62 \pm 3,26^*$	0,0001
$t\text{CO}_2$, ммоль/л	$23,81 \pm 3,26$	$21,60 \pm 4,72^*$	$15,52 \pm 3,51^*$	0,0001

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

Анализ корреляционных взаимосвязей показал достоверную зависимость параметров КОС пуповинной крови (pH, $p\text{CO}_2$, HCO_3ct , $\text{BE}_{\text{eсf}}$, BE_{b} , $t\text{CO}_2$) от тяжести перенесенной асфиксии (соответственно $r = -0,66$ при $p = 0,0001$; $r = 0,38$ при $p = 0,0002$; $r = -0,47$ при $p = 0,0001$; $r = -0,62$ при $p = 0,0001$; $r = -0,66$ при $p = 0,0001$; $r = -0,42$ при $p = 0,0001$).

Основным нарушением, выявленным при анализе КОС пуповинной крови обследованных новорожденных, был смешанный ацидоз, который по сравнению со здоровыми детьми отмечался значительно чаще у новорожденных с асфиксией средней и тяжелой степени (в 3,2 и 6,6 раза).

Для новорожденных, перенесших асфиксию различной степени тяжести,

характерным было наличие неврологических отклонений: статистически значимо по сравнению со здоровыми новорожденными преобладали симптомы угнетения ЦНС (нарушение мышечного тонуса скелетной мускулатуры, снижение спонтанной двигательной активности и физиологических рефлексов, бульбарные расстройства). В группе детей, перенесших тяжелую асфиксию, достоверно чаще отмечался судорожный синдром (21,1%), у трех новорожденных зафиксировано состояние комы 2-3-й степени с полной неподвижностью. Синдром возбуждения проявлялся в виде повышенной двигательной активности, повышении мышечного тонуса конечностей. Со стороны сердечно-сосудистой системы у новорожденных 1-й и 2-й групп регистрировались нарушения сердечного ритма по типу брадикардии или тахикардии, приглушенность сердечных тонов, гемодинамические нарушения (нестабильность артериального давления, удлинение времени «белого пятна», олигурия). Статистически значимые различия в данной патологии были обнаружены у детей с тяжелой асфиксией.

По данным нейросонографии, ведущими признаками перенесенной асфиксии у новорожденных, родившихся в состоянии асфиксии тяжелой степени, явились признаки ишемии головного мозга в виде отека вещества головного мозга, повышения эхогенности в перивентрикулярных областях, вазодилатация.

К завершению периода адаптации все дети группы сравнения были выписаны домой в удовлетворительном состоянии. После прохождения лечения выписаны домой 60,5% новорожденных, перенесших асфиксию средней степени тяжести и только 15,8% детей с тяжелой асфиксией, остальные дети этих групп переведены в отделение патологии новорожденных для продолжения лечения. К концу неонатального периода все дети, родившиеся в состоянии асфиксии различной степени, которым требовалось наблюдение в условиях круглосуточного стационара, были выписаны домой с клиническим улучшением и рекомендациями диспансерного наблюдения у невролога. Основным диагнозом у детей, перенесших тяжелую асфиксию был «ППЦНС гипоксически-ишемического генеза, острый период, средней и тяжелой степени». В группе детей со средней асфиксией с данным диагнозом выписана половина детей.

При гематологическом исследовании у всех детей, родившихся в состоянии асфиксии, отмечался относительный лимфоцитоз и палочкоядерный нейтрофилез на фоне снижения зрелых форм нейтрофилов. Анализ биохимических параметров периферической крови здоровых новорожденных и детей, перенесших асфиксию, показал, что уровни общего белка, глюкозы, билирубина не имели достоверных различий между сравниваемыми группами. У новорожденных основных групп отмечалось значительное повышение уровня трансаминаз по сравнению со здоровыми детьми, что связано с воздействием гипоксии на клеточные мембраны.

Результаты исследования уровня медиаторов межклеточного взаимодействия представлены в таблице 2.

Таблица 2

Содержание цитокинов и белков острой фазы в пуповинной крови детей с асфиксией ($M \pm \sigma$)

Показатели	Группа сравнения, здоровые новорожденные, n=29	1-я группа, дети с асфиксией умеренной степени тяжести, n=43	2-я группа, дети с асфиксией тяжелой степени, n=19	P ₁₋₂
Провоспалительные цитокины				
IL-1 β , пг/мл	3,52 \pm 0,40	6,92 \pm 19,03	2,52 \pm 0,98*	0,215
IL-6, пг/мл	33,12 \pm 43,48	141,89 \pm 190,96*	201,02 \pm 260,13*	0,0001
IL-8, пг/мл	33,51 \pm 40,79	278,27 \pm 575,45*	73,76 \pm 84,02*	0,0001
TNF- α , пг/мл	31,34 \pm 5,35	21,73 \pm 26,19	16,29 \pm 5,58*	0,241
IFN- γ , пг/мл	2,52 \pm 4,19	9,07 \pm 3,09*	9,12 \pm 2,41*	0,478
Противовоспалительные цитокины				
IL-4, пг/мл	3,26 \pm 0,61	2,06 \pm 0,84*	2,26 \pm 0,93*	0,261
IL-10, пг/мл	4,87 \pm 1,39	2,28 \pm 3,16*	2,98 \pm 4,27*	0,264
Белки острой фазы				
СРБ, мг/л	1,14 \pm 1,53	2,82 \pm 4,01*	6,24 \pm 5,87*	0,028
Лактоферрин, нг/мл	671,63 \pm 428,27	1418,73 \pm 1387,94*	1219,14 \pm 752,89*	0,341
Ферритин, нг/мл	57,08 \pm 48,47	193,90 \pm 136,28*	273,40 \pm 185,57*	0,086

Примечание. Звездочками отмечена достоверность различий (критерий Манна-Уитни) по сравнению с группой здоровых новорожденных: * - $p < 0,01$. P₁₋₂ – уровень значимости различий между группами детей: 1 – новорожденные с асфиксией средней степени тяжести, 2 – новорожденные с тяжелой асфиксией.

У всех новорожденных, перенесших при рождении асфиксию, отмечено повышение концентрации IL-6, IL-8, IFN- γ в пуповинной крови относительно параметров группы сравнения. Полученные данные свидетельствуют о нару-

шении принципа локальности функционирования цитокиновой системы, что наблюдается при патологических процессах, сопровождающихся генерализованной активацией клеток иммунной системы.

У детей, родившихся в асфиксии тяжелой степени, выявлено достоверное снижение содержания в пуповинной крови IL-1 β и TNF- α , по сравнению с параметрами здоровых детей, что свидетельствует об угнетении функциональной активности клеток моноцитарно-макрофагального звена, относящегося к системе врожденного иммунитета.

Первичные медиаторы межклеточного взаимодействия, в особенности IL-6, стимулируют усиленную выработку белков острой фазы. Проведенные исследования показали, что уровень С-реактивного белка у детей, родившихся в асфиксии умеренной и тяжелой степени, достоверно превышал аналогичные показатели здоровых детей. Наряду с опосредованием воспалительных реакций, IL-6 участвует в регуляции пролиферативных процессов и метаболизме железа, определяя выработку основных железосвязывающих белков, в том числе ферритина и лактоферрина. Уровень ферритина у новорожденных, перенесших умеренную и тяжелую асфиксию, также был статистически значимо выше, чем у здоровых детей.

Содержание провоспалительных медиаторов IL-4 и IL-10 при асфиксии средней степени тяжести было достоверно снижено относительно параметров здоровых детей, что свидетельствует о проявлении «воспалительной» перестройки микроциркуляции вследствие активации врожденного и приобретенного компонентов иммунной системы.

При сопоставлении цитокинового статуса новорожденных с различной степенью асфиксии было обнаружено, что при тяжелой асфиксии отмечались наиболее высокие уровни IL-6 и СРБ, а при асфиксии средней степени тяжести – IL-8. Следует отметить, что уровни IL-6 и СРБ в пуповинной крови новорожденных положительно коррелировали со степенью перенесенной асфиксии.

К завершению раннего периода адаптации в сыворотке крови новорожденных, перенесших асфиксию средней степени тяжести, отмечалось достоверное снижение

уровня IL-1 β . Содержание IL-8, IFN- γ , СРБ и ферритина сохранялось на высоком уровне, достоверно превышая аналогичные параметры здоровых детей. Концентрация IL-4 и IL-10 также оставалась достоверно сниженной относительно параметров группы сравнения. В содержании лактоферрина к 5-м суткам жизни статистически значимых различий обнаружено не было. У новорожденных, перенесших асфиксию тяжелой степени, концентрация IL-1 β , IL-6, IL-8, СРБ и лактоферрина к завершению раннего периода адаптации достигала уровня здоровых детей. Концентрация TNF- α оставалась достоверно сниженной, продукция IFN- γ сохранялась на высоком уровне, а IL-4 и IL-10 – на низком.

Острая гипоксия, а также высокий уровень провоспалительных цитокинов обуславливает активацию эндотелиальных клеток, высвобождение вазоконстрикторов и вазодилататоров (оксид азота), гиперпродукция которых может вызывать повреждение и гибель нейронов. В ответ на гипоксию наблюдается существенное увеличение продукции NO, способствуя поддержанию кальциевого гомеостаза клеток, защищая их от гибели.

Результаты исследования конечных метаболитов азота представлены в таблице 3.

Таблица 3

Содержание азота в пуповинной крови новорожденных ($M \pm \sigma$)

Показатели	Группа сравнения, здоровые новорожденные, n=29	1-я группа, дети с асфиксией умеренной степени тяжести, n=43	2-я группа, дети с асфиксией тяжелой степени, n=19	P ₁₋₂
Общий NO ₂ , мкмоль/л	27,15 \pm 12,73	11,50 \pm 11,24*	6,03 \pm 7,59*	0,01
Эндогенный NO ₂ , мкмоль/л	20,24 \pm 13,28	12,01 \pm 13,79*	6,30 \pm 8,44*	0,0001
NO ₃ , мкмоль/л	10,34 \pm 13,64	1,45 \pm 4,67*	0,57 \pm 1,22*	0,423

Примечание. Звездочками отмечена достоверность различий по сравнению с группой здоровых новорожденных: * - p<0,01. P₁₋₂ – уровень значимости различий между группами детей: 1 – новорожденные с асфиксией средней степени тяжести, 2 – новорожденные с тяжелой асфиксией.

Содержание нитритов и нитратов в пуповинной крови новорожденных, родившихся в асфиксии, снижалось пропорционально утяжелению степени асфиксии в родах, что может отражать тяжесть гипоксических повреждений (табл.3).

Полученные данные были подтверждены наличием отрицательных корреляционных взаимосвязей между содержанием общего, эндогенного NO_2 , а также NO_3 со степенью тяжести гипоксии (соответственно $r=-0,69$ при $p=0,0001$; $r=-0,58$ при $p=0,0001$; $r=-0,49$ при $p=0,0001$). Значимость и выраженность этих взаимосвязей была максимальной у новорожденных с асфиксией тяжелой степени.

К исходу раннего неонатального периода содержание нитритов и нитратов в сыворотке крови здоровых новорожденных достоверно увеличилось. Динамика изменения содержания конечных метаболитов азота у детей, родившихся в асфиксии, носила разнонаправленный характер: при асфиксии умеренной степени концентрация общего NO_2 и NO_3 относительно показателей пуповинной крови к 5-м суткам жизни статистически значимо не изменялась и была достоверно ниже аналогичных параметров группы сравнения ($p<0,0001$), при тяжелой асфиксии - достоверно возрастала, но оставалась значительно ниже показателей здоровых детей. Выявленный нами дефицит NO у детей, перенесших асфиксию при рождении, свидетельствует о нарушении ферментативной функции ЦНС, а также о дисфункции эндотелия, развивающейся в ответ на гипоксическое воздействие.

Ввиду того, что к завершению раннего периода адаптации по результатам клинического обследования в 48,8% случаев детям, перенесших при рождении асфиксию умеренной степени тяжести был выставлен диагноз: ППЦНС гипоксически-ишемического генеза, острый период, группу детей, родившихся в состоянии умеренной асфиксии, подразделили на подгруппы в зависимости от исхода: наличие или отсутствие перинатального поражения ЦНС.

Оценка кислотно-основного состояния пуповинной крови показала, что у новорожденных, перенесших асфиксию средней степени тяжести с неврологическими нарушениями, парциальное давление кислорода было достоверно выше, а общая концентрация углекислого газа, напротив, статистически значимо ниже, чем у детей без ППЦНС (табл. 4).

Таблица 4

Кислотно-основное состояния пуповинной крови новорожденных с асфиксией умеренной степени тяжести ($M \pm \sigma$)

Показатели	1-я группа, дети с асфиксией умеренной степени тяжести, n=43		P ₁₋₂
	1-я подгруппа (без ППЦНС, n=22)	2-я подгруппа (с ППЦНС, n=21)	
pH	7,20 ± 0,10	7,20 ± 0,12	0,44
pCO ₂	56,66 ± 12,88	49,94 ± 19,59	0,09
pO ₂	14,91 ± 6,50*	21,27 ± 13,72	0,03
HCO _{3ct}	21,84 ± 2,71	17,77 ± 5,18 *	0,001
HCO _{3act}	17,14 ± 2,67	15,69 ± 3,17	0,05
BEecf	-6,20 ± 3,52	-10,08 ± 5,26*	0,003
BEb	-7,11 ± 3,67	-10,24 ± 4,81*	0,01
tCO ₂	23,53 ± 2,85	19,62 ± 5,38*	0,002

Примечание: P₁₋₂ – уровень значимости различий между группами детей с ППЦНС и без ППЦНС (критерий Манна-Уитни).

Уровни стандартного бикарбоната у новорожденных с ППЦНС также были достоверно снижены, а дефицит оснований (BEecf и BEb) более выражен относительно параметров детей 1-й группы.

Таким образом, изменение параметров кислотно-основного состояния пуповинной крови (HCO_{3ct}, BEecf, BEb и tCO₂) связано не только со степенью тяжести перенесенной асфиксии, но и с формированием неврологических нарушений у новорожденных.

При наличии неврологических нарушений, у детей был отмечен сниженный уровень IL-6, IL-8, IFN-γ и повышенное содержание противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-10 по сравнению с параметрами новорожденных без ППЦНС (табл.5).

Таблица 5

Содержание цитокинов и белков острой фазы в пуповинной крови новорожденных с асфиксией умеренной степени тяжести ($M \pm \sigma$)

Показатели	1-я группа, дети с асфиксией умеренной степени тяжести, n=43		P ₁₋₂
	1-я подгруппа (без ППЦНС, n=22)	2-я подгруппа (с ППЦНС, n=21)	
Провоспалительные			
IL-6, пг/мл	175,56 ± 208,86*	81,53 ± 127,78	0,04
IL-8, пг/мл	428,08 ± 748,15*	70,05 ± 96,19	0,03
IFN-γ, пг/мл	9,82 ± 1,63*	8,24 ± 4,12	0,04
Противовоспалительные			
IL-4, пг/мл	1,73 ± 0,42	2,47 ± 1,05*	0,003
IL-10, пг/мл	1,16 ± 0,33	3,55 ± 4,36*	0,009

Примечание: P₁₋₂ – уровень значимости различий между группами детей с ППЦНС и без ППЦНС (критерий Манна-Уитни).

Следует отметить, что содержание IL-4 у новорожденных с ППЦНС отрицательно коррелировало с уровнем провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8,

IFN- γ (соответственно $r=-0,58$ при $p=0,01$; $r=-0,67$ при $p=0,007$; $r=-0,69$ при $p=0,007$) и положительно – с концентрацией IL-1 β ($r=0,92$ при $p=0,0001$). В то же время, у детей без ППЦНС данных взаимосвязей обнаружено не было.

Снижение выработки и выброса в кровотоки провоспалительных цитокинов у детей с неврологическими нарушениями, возможно, обусловлено массивным повреждением тканей ЦНС, разрушением нейронов и астроглиальных клеток в результате гипоксического воздействия. При оценке содержания оксида азота в пуповинной крови новорожденных обнаружено, что концентрация общего и эндогенного NO₂ у детей с неврологической симптоматикой практически в 6 раз превышала содержание данных метаболитов у детей, перенесших асфиксию средней степени тяжести без неврологической симптоматики, а уровень NO₃ был выше в 25 раз. К концу раннего периода адаптации у детей, не имевших перинатального поражения ЦНС, отмечено повышение уровней общего и эндогенного NO. Увеличение уровня вазодилататора (NO) способствует улучшению трофики клеток ЦНС, поэтому у данной группы детей ППЦНС не реализовалось.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о нарушении функционального состояния эндотелия сосудов, сопровождающемся повышением уровня NO даже в отсутствие выраженной стимуляции цитокинами по сравнению с детьми с ППЦНС, что позволило разработать модель диагностики формирования неврологических нарушений в неонатальном периоде с использованием показателей пуповинной крови.

При проведении корреляционного анализа обнаружены отрицательные взаимосвязи между концентрацией общего и эндогенного нитрита азота и наличием патологии ЦНС у новорожденных (соответственно $r=-0,79$ при $p=0,00001$; $r=-0,67$ при $p=0,00001$). Кроме того, у детей с перинатальным поражением ЦНС были выявлены отрицательные взаимосвязи между уровнем IL-6 и содержанием общего NO₂ ($r=-0,73$; $p=0,0004$), между концентрацией эндогенного NO₂ и уровнем IL-6 ($r=-0,57$; $p=0,009$) и IL-8 ($r=-0,58$; $p=0,001$, тогда как в группе новорожденных без перинатального поражения ЦНС данных корреляционных взаимосвязей выявлено не было.

При использовании дискриминантного анализа были определены наиболее информативные параметры, отражающие формирование неврологических на-

рушений у детей, и предложен способ ранней диагностики перинатального поражения ЦНС у новорожденных с умеренной асфиксией при рождении (по стандартной оценке степени тяжести асфиксии в родах согласно МКБ X). Основу способа составляет определение в сыворотке пуповинной крови концентрации IL-6, IL-8 и NO₂ методом иммуноферментного анализа, с последующим вычислением диагностического индекса (DI) по формуле: $DI = 0,005X_1 - 0,004X_2 + 0,162X_3 - 2,055$, где X₁ – концентрация IL-6, пг/мл; X₂ – концентрация IL-8, пг/мл; X₃ – концентрация общего NO₂, мкмоль/л. При DI менее 0 делают заключение об отсутствии лабораторных признаков развития неврологической патологии, а при DI более 0 диагностируют наличие лабораторных признаков ППЦНС у новорожденных. Разработанный способ ранней диагностики перинатального поражения ЦНС у детей с асфиксией умеренной степени тяжести при рождении позволил вывести алгоритм обследования детей, родившихся в состоянии асфиксии умеренной степени тяжести (рис.1).



Рис. 1. Алгоритм обследования новорожденных, родившихся в состоянии асфиксии умеренной степени тяжести.

ВЫВОДЫ

1. В клинической картине новорожденных, перенесших асфиксию различной степени тяжести, преобладают симптомы угнетения ЦНС, а при тяжелой асфиксии детей достоверно чаще отмечаются и гемодинамические нарушения. В оценке степени тяжести асфиксии объективными маркерами являются показатели КОС пуповинной крови: рН, парциальное давление углекислого газа, концентрация стандартного бикарбоната, дефицит оснований в цельной крови и внеклеточной жидкости и общая концентрация CO_2 . Формирование неврологических нарушений связано с увеличением pO_2 дефицита ВЕ, снижением $\text{HCO}_3\text{ст}$ и tCO .

2. Установлено, что развитие асфиксии у новорожденных сопровождается повышенной продукцией медиаторов воспаления (IL-6, IL-8, IFN- γ , С-реактивного белка, ферритина и лактоферрина), а также снижением уровня противовоспалительных цитокинов (IL-4 и IL-10), содержания конечных стабильных метаболитов оксида азота в пуповинной крови.

3. У новорожденных, перенесших асфиксию средней и тяжелой степени, определены особенности формирования иммунологических изменений в раннем периоде адаптации. Констатировано повышение содержания IFN- γ и ферритина, снижение уровня TNF- α , IL-4, IL-10, общего NO_2 и NO_3 к 5-м суткам жизни относительно параметров здоровых детей. При асфиксии умеренной степени тяжести у новорожденных на фоне выявленных изменений отмечается повышение уровня IL-8 и СРБ в периферической крови, по сравнению с показателями здоровых детей, а также снижение содержания IL-1 β в сравнении как с показателями здоровых новорожденных, так и с параметрами детей с тяжелой асфиксией.

4. Информативными признаками, позволяющими диагностировать формирование перинатального поражения ЦНС у доношенных детей, перенесших асфиксию средней степени тяжести при рождении, являются: содержание IL-6, IL-8 и уровень общего NO_2 в пуповинной крови.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Оценка клинического состояния детей с перинатальной асфиксией при рождении должна проводиться комплексно: с учетом анамнеза матерей, характеристики родового процесса, шкалы Апгар в сочетании с исследованием КОС и, при необходимости, уровня цитокинов в пуповинной крови.

2. Для оценки риска развития перинатального поражения ЦНС рекомендуется иммунологическое обследование детей, родившихся в асфиксии умеренной степени тяжести, с определением в сыворотке пуповинной крови концентрации IL-6, IL-8 и общего NO₂ методом иммуноферментного анализа, с последующим вычислением диагностического индекса (DI) по формуле и вынесением заключения о наличии лабораторных признаков развития неврологической патологии.

3. При наличии лабораторных признаков ППЦНС рекомендуется проведение НСГ на 2-3-и сутки жизни, осмотр невролога перед выпиской, наблюдение невролога и контроль НСГ в 1 месяц.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Скареднова Е.Ю. Определение содержания некоторых цитокинов для оценки иммунологической адаптации новорожденных / Е.Ю. Скареднова, Г.Н. Чистякова, И.А. Газиева // Российский иммунологический журнал. – 2008. – № 2-3, Т.2 (11). – С. 332 - 333.
2. Скареднова Е.Ю. К вопросу о поиске маркеров неврологической патологии новорожденных, перенесших асфиксию / Е.Ю. Скареднова, И.А. Газиева, Г.Н. Чистякова // Российский иммунологический журнал. – 2008. – № 2-3, Т.2 (11). – С. 233.
3. Скареднова Е.Ю. Особенности ранней иммунологической адаптации новорожденных от женщин с осложненной беременностью / Е.Ю. Скареднова, Г.Н. Чистякова, И.А. Газиева // Российский иммунологический журнал. – 2008. – № 2-3, Т.2 (11). – С. 233.
4. Скареднова Е.Ю. Признаки системной воспалительной реакции у новорожденных, развивавшихся в условиях хронической гипоксии / Е.Ю. Скаредно-

- ва, Г.Н. Чистякова, И.А. Гагиева // Сибирский медицинский журнал. – 2008. - № 3, выпуск 1. – С. 113.
5. Скареднова Е.Ю. Перспективы использования медиаторов межклеточного взаимодействия для оценки иммунологической адаптации новорожденных / Е.Ю. Скареднова, В.В. Ковалев, Г.Н. Чистякова, И.А. Гагиева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. - № 9. – С. 11-12.
 6. Скареднова Е.Ю. Содержание маркеров воспаления у новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию / Е.Ю. Скареднова, В.В. Ковалев, Г.Н. Чистякова, И.А. Гагиева, И.И. Ремизова // Уральский медицинский журнал. – 2008. - № 12. – С. 89-91.
 7. Чистякова Г.Н. Маркеры нарушения иммунологической адаптации новорожденных, развивавшихся в условиях хронической гипоксии / Г.Н. Чистякова, И.А. Гагиева, Е.Ю. Скареднова, И.И. Ремизова // Уральский медицинский журнал. – 2008. - № 12. – С. 85-88
 8. Гагиева И.А. Использование медиаторов межклеточного взаимодействия в оценке состояния иммунной системы новорожденных, перенесших гипоксическое воздействие / И.А. Гагиева, Г.Н. Чистякова, Е.Ю. Скареднова, И.И. Ремизова // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2009. – № 2. – С. 165-166.
 9. Скареднова Е.Ю. Перспективы использования определения цитокинов для оценки ранней постнатальной адаптации новорожденных / Скареднова Е.Ю., Чистякова Г.Н., Гагиева И.А. // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т. 9, № 3. – С. 349.
 10. Скареднова Е.Ю. Иммунологические предикторы развития постгипоксических осложнений у новорожденных / Е.Ю. Скареднова, В.В. Ковалев, И.А. Гагиева, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова // Мать и дитя: материалы III регионального научного форума (Саратов, 30 июня-2 июля 2009 г.). – Москва, 2009. – С. 255-256.
 11. Скареднова Е.Ю. Состояние стресс-лимитирующих систем у новорожденных, перенесших гипоксию / Е.Ю. Скареднова, Г.Н. Чистякова, И.А. Гагиева, И.И. Ремизова // Вестник Уральской медицинской академической науки

- (тематический выпуск по аллергологии и иммунологии). – 2009. - № 2/1 (24). – С. 155-157.
12. Скареднова Е.Ю. Особенности продукции оксида азота у новорожденных, перенесших гипоксию / Е.Ю. Скареднова, Г.Н. Чистякова, И.А. Газиева, И.И. Ремизова // Медицинская иммунология. – 2009. – Т. 11, № 4-5. – С. 420.
 13. Скареднова Е.Ю. Иммунологические критерии нарушения ранней постнатальной адаптации у новорожденных, перенесших гипоксическое воздействие / Е.Ю. Скареднова, Г.Н. Чистякова, В.В. Ковалев, И.А. Газиева, И.И. Ремизова // Уральский медицинский журнал. – 2009. – № 7. – С. 18-24.
 14. Скареднова Е.Ю. Иммунологические маркеры риска развития постгипоксических осложнений у детей, родившихся в асфиксии / Е.Ю. Скареднова, В.В. Ковалев, И.А. Газиева, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова // Мать и дитя: материалы X юбилейного Всероссийского научного форума. – М., 2009 (29 сентября – 2 октября). – С. 473-474.
 15. Скареднова Е.Ю. Особенности иммунологической реактивности детей, родившихся в асфиксии / Г.Н. Чистякова, Е.Ю. Скареднова, В.В. Ковалев, И.А. Газиева, И.И. Ремизова // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2009. – № 4. – С. 62-65.
 16. Скареднова Е.Ю. Продукция NO в период ранней постнатальной адаптации детей, родившихся в асфиксии / Е.Ю. Скареднова, В.В. Ковалев, Г.Н. Чистякова, И.А. Газиева // Лабораторная медицина в свете Концепции развития здравоохранения России до 2020 года: труды научно-практической конференции. – Москва, 2009 г. (28-30 сентября). – С. 160-161.
 17. Скареднова Е.Ю. Клинические особенности периода адаптации у доношенных детей, родившихся в состоянии асфиксии / Е.Ю. Скареднова // Уральский медицинский журнал. – 2010. - № 5 (70). – С. 47-52.
 18. Скареднова Е.Ю. Ранние маркеры реализации перинатального поражения ЦНС у новорожденных, перенесших асфиксию / И.И. Ремизова, И.А. Газиева, Е.Ю. Скареднова, Е.В. Занина // Российский иммунологический журнал. – 2010. – Т.4 (13), №4. – С. 424.

СКАРЕДНОВА ЕЛЕНА ЮРЬЕВНА

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ,
ПЕРЕНЕСШИХ АСФИКСИЮ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

14.01.08 – педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по решению профильной комиссии
ГОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития России от 29 марта 2011г.