



и уменьшение концентрации NSE в подгруппе «ЦИ-I» в 1,2 раз и подгруппе «ЦИ-II» в 1,6 раза (Таблица 3).

Таблица 3.

Концентрация S 100β и NSE в венозной крови на 5 сутки

Белки	I группа		
	N	ЦИ I	ЦИ II
S 100β	1095,0* (797,7; 2299,0)	2246,37° (1215,75; 3293,75)	1511,19 (1253,06; 1905,97)
NSE	114,7 (50,47; 217,8)	162,12# (120,27; 221,05)	71,69* (66,65; 75,56)

° - достоверные различия медиан ($p < 0,05$) с подгруппой «N»

* - достоверные различия медиан ($p < 0,05$) с подгруппой «ЦИ I»

- достоверные различия медиан ($p < 0,05$) с подгруппой «ЦИ II»

Таким образом, можно свидетельствовать о клинической недооценке состояния новорожденных в подгруппах «N» и «ЦИ-I». По нашему мнению, у этих детей существует угроза дальнейшего развития неврологической симптоматики в течение первого года жизни. В то же время в подгруппе «ЦИ-II» своевременная диагностика неврологических нарушений позволила провести необходимую коррекцию выявленных нарушений, о чем свидетельствует динамическое снижение

нейроспецифических белков (S 100β и NSE).

Выводы

Состояние мозговой гемодинамики накануне родов зависит от содержания нейроспецифических маркеров и выраженности гипоксемии.

Увеличение концентрации ЭТ-1 и АДМА в пуповинной крови является прогностически неблагоприятным признаком, указывающим на усиление экспрессии гипоксемических маркеров поражения мозга плода и ухудшение мозговой гемодинамики.

Включение в алгоритм обследования беременных накануне родов доплерометрии СМА будет способствовать повышению качества наблюдения за беременными, выбору оптимального срока и метода родоразрешения, своевременному выявлению патологических состояний новорожденных.

По нашему мнению, комплексное обследование плода и новорожденного, включающее доплерометрическое обследование накануне родов и определение нейроспецифических маркеров поражения головного мозга плода при рождении и на 5-6 сутки жизни в сочетании с проведением УЗ нейросонографии для детей с клиническими признаками неврологических нарушений, позволит улучшить показатели здоровья детей первого года жизни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов А.А., Щеплягина Л.А., Ильин А.Г. Состояние здоровья детей как фактор национальной безопасности // Российский педиатрический журнал. — 2005. — № 2. — С. 4-7.
2. Феоктистова Т.Е. Мониторинг адаптационных реакций плода в III триместре беременности, осложненных гестозом : Автореф. дис. канд. мед. наук. — Ростов на Дону, 2009. — 21 с.
3. Голосная Г.С. Изменение уровня белка S-100 у новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС // Педиатрия. — 2004. — № 1. — С. 10-15.
4. Афанасьева Н.В., Стрижаков А.Н. Исходы беременности и родов при ФПН различной степени тяжести // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2004. — Т.3, № 2. — С. 7-13.
5. Gazzolo D. S100B Protein is increased in asphyxiated term infants developing intraventricular hemorrhage / D. Gazzolo, R. Di Iorio, E. Marinoni // Crit. Care Med. — 2002. Vol. 30. — P. 1356-1360.
6. Meynaar I.A. Serum neuron-specific enolase predicts outcome in post-anoxic coma: a prospective cohort study / I.A. Meynaar, H.M. Oudemans-van Straaten, P. van der Wetering // Int Care Med. — 2003. Vol. 29. — P. 189-195.
7. Викторов И.В. Роль оксида азота и других свободных радикалов в ишемической патологии мозга // Вестник РАМН. — 2000. — № 4. — С. 5-11.
8. Пальчик А. Б. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных : руководство для врачей / А.Б. Пальчик, Н.П. Шабалов. — Санкт-Петербург : Питер, 2000. — 224 с.

ПОСТУПИЛА 26.07.2013

УДК 616.155.32-94+612.648

М.Г. Пухтинская, В.В. Эстрин

ПРОФИЛАКТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ КОРРЕКЦИЕЙ АПОПТОЗА Т-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У НОВОРОЖДЕННЫХ С РЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

*Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии
Россия, 344012 г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова 43. E-mail: puhmar@mail.ru*



Цель: снижение частоты развития бактериальных осложнений у новорожденных с респираторной патологией, находящихся на искусственной вентиляции легких (ИВЛ).

Материалы и методы: в рандомизированное, контролируемое, слепое клиническое исследование включено 69 новорожденных с респираторной патологией на ИВЛ, родившихся в сроке $39,2 \pm 1,1$ недель, с массой 3650 ± 421 , оценкой по Апгар $2,3 \pm 1,1$, без клинических признаков инфицирования, с содержанием лимфоцитов крови в раннем (AnnexinV-FITC+PI-) и позднем (AnnexinV-FITC+PI+) апоптозе свыше 9,59% и 0,56% (соответственно), распределенных на группы: пациенты I ($n=39$) получали чр-ГКСФ 10 мкг/кг/сутки внутривенно в течение первых 3 суток; во II группе ($n=30$) чр-ГКСФ не назначали. При поступлении на 3-5 сутки и в исходе заболевания методом ИФА изучали содержание Г-КСФ, ФРФ, sFas-L; субпопуляционный состав лимфоцитов крови методом проточной цитометрии на проточном цитометре Beckman Coulter Epics XL (США).

Результаты: статистический анализ результатов подтвердил снижение относительного содержания лимфоцитов с активированным Fas-рецептором (CD95) и лимфоцитов, находящихся в раннем и позднем апоптозе; увеличение стволовых клеток в периферической крови, возрастание уровня ФРФ и антиапоптогенного sFAS после введения чр-ГКСФ; снижение частоты развития септических осложнений.

Выводы: своевременная коррекция апоптоза Т-лимфоцитов крови чр-ГКСФ эффективно и безопасно профилактирует развитие сепсиса у новорожденных с респираторной патологией, находящихся на ИВЛ.

Ключевые слова: апоптоз, цитокины, сепсис, новорожденный.

M.G. Puchtinskaya, V.V. Estrin

PREVENTION OF BACTERIAL COMPLICATIONS CORRECTION APOPTOSIS OF T-LYMPHOCYTES IN NEWBORNS WITH RESPIRATORY DISEASE

Rostov Scientific and Research Institute of Obstetrics and Pediatrics

43, Mechnikova Str., Rostov-on-Don, 344012, Russia. E-mail: puhmar@mail.ru

Purpose: prevention of bacterial complications correction apoptosis of T lymphocytes with human recombinant granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF-par).

Materials and Methods: In randomized, controlled, blind clinical study included 69 neonates with respiratory pathology on mechanical ventilation who were born at term $39,2 \pm 1,1$ weeks, with a mass of 3650 ± 421 , Apgar score $2,3 \pm 1,1$, no clinical signs of infection, containing lymphocytes in early (AnnexinV-FITC + PI-) and late (AnnexinV-FITC + PI +) apoptosis than 9.59% and 0.56% (respectively) distributed in groups: patients I ($n = 39$) received G-CSF is a par-10 mg / kg / day intravenously for the first 3 days, in group II ($n = 30$) par-G-CSF was not given. On admission, for 3-5 days and in the outcome of the disease by ELISA studied the content of G-CSF, FGF, sFas-L; subpopulations of lymphocytes by flow cytometry on a flow cytometer, Beckman Coulter Epics XL (USA).

Results: Statistical analysis of the results confirmed the reduction of the relative amount of lymphocytes activated Fas-receptor (CD95) and lymphocytes repositories early and late apoptosis, increasing stem cells in peripheral blood, elevated levels of FGF and antiapoptogennogo sFAS after administration par-GCSF, decrease the incidence of septic complications.

Summary: Timely correction of apoptosis of T-lymphocytes par-G-CSF is effective and safe profilaktiruet onset sepsis in neonates with respiratory disorders who are on mechanical ventilation.

Keywords: apoptosis, cytokines, sepsis, newborn.

Введение

Одной из проблем современного здравоохранения является рождение новорожденных с тяжелой респираторной патологией (синдром аспирации, перинатальное поражение центральной нервной системы), требующей проведения продленной искусственной вентиляции легких (ИВЛ) [1]. Известно, что у этих пациентов по целому ряду причин и несмотря на постоянное совершенствование методов профилактики неонатального сепсиса, велика вероятность развития бактериальных осложнений [2,3]. Именно поэтому лечение новорожденных, находящихся в условиях реанимацион-

ного отделения на ИВЛ, представляет большие трудности во всем мире [2].

Из общего числа новорожденных, находящихся на ИВЛ, особого внимания клиницистов заслуживают дети с развитием нейтропении, так как снижение абсолютного числа нейтрофилов (АЧН) служит неоспоримым лабораторным признаком присоединения бактериальных осложнений и вероятного неблагоприятного исхода заболевания, в том числе у потенциально излечимых пациентов [3]. Терапевтические возможности в данной ситуации достаточно ограничены, так как чаще всего инфекционные осложнения вызваны антибиотикорезистентной нозокомальной флорой, а назначение препаратов иммуногло-



булинового ряда требует значительных финансовых затрат и не всегда приносит желаемый результат [4]. В этой связи коррекция нейтропении у новорожденных на ИВЛ человеческим рекомбинантным гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (чр-ГКСФ), о которой впервые сообщил E. R. Gillan с соавторами в 1994 году, представляет большой научный и практический интерес [5].

На сегодняшний день данные Кохрейновских обзоров подтверждают безопасность использования чр-ГКСФ в терапии септической инфекции у новорожденных при развитии нейтропении; но не подтверждают достоверного снижения летальности среди пациентов, получавших цитокинотерапию чр-ГКСФ [6].

В ходе собственных исследований по изучению патогенеза развития нейтропении у новорожденных с респираторной патологией, находящихся на ИВЛ, нами было установлено, что одной из причин ее развития является активация апоптоза Т-лимфоцитарного звена иммунокомпетентных клеток крови [7, 8, 9].

Таким образом, с разрешения этического комитета и письменного согласия родителей пациентов, проведено контролируемое, рандомизированное, слепое клиническое испытание эффективности и безопасности коррекции апоптоза Т-лимфоцитов чр-ГКСФ с целью профилактики развития бактериальных осложнений у новорожденных с респираторной патологией, находящихся на ИВЛ.

Материалы и методы

В исследование включены 69 новорожденных с респираторной патологией, поступивших в реанимационное отделение на ИВЛ, родившихся в сроке гестации $39 \pm 1,1$ недель, с массой тела 3650 ± 421 грамм, с оценкой по Апгар $2,3 \pm 1,1$ балла, без клинических признаков инфицирования и относительным содержанием лимфоцитов крови в раннем и позднем апоптозе свыше 9,59% и 0,56% (соответственно).

Рандомизация осуществлялась методом конвертов. Новорожденные были разделены на две группы. Пациенты I ($n=39$) получали чр-ГКСФ в дозе 10 мкг/кг/сутки внутривенно в течение первых 3 суток госпитализации. Дети II группы ($n=30$) чр-ГКСФ не получали.

Помимо стандартного клинико-лабораторного обследования пациентам при поступлении, на 3-5 сутки и в исходе заболевания определяли:

- плазменный уровень эндогенного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), фактора роста фибробластов (ФРФ), антиапоптогенного (sFas-лиганда) методом иммуноферментного анализа (ИФА) на многофункциональном программируемом счетчике для иммунологических исследований с компьютером и программным обеспечением (Victor, Финляндия), используя тест-системы фирмы Cytimmune sciences inc. (США) и Bender MedSystems GmbH (Австрия, Вена);

- субпопуляционный состав лимфоцитов крови методом однопараметрического иммунофенотипирования, используя реагенты фирмы Immunotech Beckman Coulter (США): фитц-меченные CD 3, CD 4, CD 8, CD 14, CD 19, CD 34, CD 56, CD 69, CD 71, CD 95, HLA-DR моноклональные антитела;

- относительное содержание лимфоцитов, находящихся в раннем (AnnexinV-FITC+PI-) и позднем (AnnexinV-

FITC+PI+) апоптозе, методом проточной цитометрии (AnnexinV+, меченный FITC и пропидиум йодид (PI+), меченный PE, Caltag, США), с учетом результатов на цитометре Beckman Coulter Epics XL (США), используя стандартные протоколы с выделением пула лейкоцитов крови путем использования лизирующего раствора OptiLyse C Beckman Coulter (США) по прилагаемому протоколу.

В исследовании основанием для постановки диагноза «сепсис» служило сочетание не менее двух симптомов системной воспалительной реакции организма (СВРО) с наличием любого гнойно-воспалительного очага, или с положительной гемокультурой, или с наличием клинических симптомов инфекции [10].

Безопасность оценивали документальными протоколированием всех побочных эффектов и динамикой лабораторных данных. Легкие случаи неблагоприятных эффектов определялись как любое изменение существующего состояния пациента, происходящее во время терапии чр-ГКСФ. Серьезное неблагоприятное воздействие - как любой опыт, предполагающий угрозу жизни или приводящий к продлению госпитализации.

В качестве маркеров эффективности чр-ГКСФ использовали уровень стволовых клеток (CD 34), абсолютное число нейтрофилов (АЧН), содержание лимфоцитов крови в раннем (AnnexinV-FITC+PI-) и позднем (AnnexinV-FITC+PI+) апоптозе, частоту развития сепсиса, длительность проведения ИВЛ и летальность.

Результаты исследования оценивали методом вариационной статистики с использованием выборочного среднего, стандартного отклонения, средней квадратичной ошибки, доверительных интервалов, медианы и ошибки медианы. Для подтверждения достоверности различия отдельных выборок использовали непараметрический критерий Вилкоксона. Абсолютный и относительный риск развития неонатального сепсиса и летального исхода оценивали методом построения четырехпольных таблиц. Сравнительный анализ длительности ИВЛ в обеих группах анализировали построением графиков Каплана-Мейера. Достоверность полученных результатов оценивали критерием Гехана-Вилкоксона. Достоверность предположений подтверждали посредством точного теста Фишера-Ирвина при 5% уровне значимости в отношении двухсторонней альтернативы. Статистическая мощность исследования составила 80% ($\alpha \leq 0,05$). В исследовании общие статистические показатели определяли используя Excel-2000; для оценки достоверного различия выборок и вида распределения эмпирических данных применяли пакет прикладных программ «Мегастат». Для оценки долей по методу Фишера-Ирвина и расчета мощности исследования использовали пакет Statistica-6.

Результаты и обсуждение

При поступлении в отделение, помимо высокого содержания лимфоцитов, находящихся в раннем и позднем апоптозе, у всех пациентов отмечались повышенное содержание лимфоцитов с ранним активационным маркером апоптоза (CD95), сниженное содержание стволовых клеток (CD34) и низкие уровни эндогенного Г-КСФ, пролиферативного ФРФ, антиапоптогенного растворимого sFas-лиганда (таблица 1). Полученные данные свидетельствовали о том, что у обследованных детей процесс альтерации иммунокомпетентных клеток превышал пролиферативную активность. То есть на момент поступления



в реанимацию эти новорожденные имели высокий риск развития нейтропении, бактериальных осложнений и неблагоприятного исхода заболевания [11].

Не случайно в представленном исследовании во II группе у 27 пациентов к 3-5 суткам госпитализации было отмечено развитие нейтропении $2,32 \pm 0,41$ кл/мм³; отмечались динамическое нарастание относительного содержания лимфоцитов в апоптозе, снижение уровня эндогенного Г-КСФ и CD34 ($p < 0,05$). Диагноз сепсис был подтвержден у 25 детей, 16 из которых погибло.

К 3-5 суткам у пациентов, получивших чр-ГКСФ, статистически значимо снизилось содержание лимфоцитов с активированным Fas-рецептором (CD95) и лимфоцитов, находящихся в раннем и позднем апоптозе; повысилось содержание стволовых клеток, вырос уровень ФРФ и антиапоптогенного sFAS-L (таблица 1). Кроме

того, отмечался кратковременный лейкоцитоз со снижением лейкоцитов в гемограмме до нормальных значений после окончания курса терапии чр-ГКСФ. Однако в нашем исследовании не выявлено статистически значимого увеличения эндогенного Г-КСФ. Вероятно, вводимый рекомбинантный аналог Г-КСФ полностью связывался с поверхностными мембранными белками клеток.

У всех пациентов этой группы течение заболевания не осложнилось развитием сепсиса. Не отмечено каких-либо клинических или лабораторных признаков неблагоприятного воздействия препарата на организм новорожденного. Летальные исходы (4) не имели связи с терапией чр-ГКСФ, что было подтверждено клинико-лабораторным обследованием и результатами патологоанатомического вскрытия. Сократилась длительность проведения ИВЛ ($p < 0,05$).

Таблица 1

Статистическая значимость различий некоторых иммунологических показателей крови у новорожденных с респираторной патологией на ИВЛ до и после терапии чр-ГКСФ

1 сутки	CD34 (%)	CD95 (%)	Annexin VFITC+PI- (%)	Annexin VFITC+PI+ (%)	К-во лейкоцитов /л	АЧН	Г-КСФ (пг/мл)	sFas-L (пг/мл)	ФРФ (пг/мл)
Медиана	0,2	9,8	16,1	1,3	6,8	183,0	2,4	1135,0	15,1
1 квартиль	0,1	5,6	13,7	0,9	5,2	87,6	0,5	805,0	10,1
3 квартиль	0,3	11,7	21,3	2,4	10,1	440,7	15,8	2627,5	20,5
3-5 сутки	CD34 (%)	CD95 (%)	Annexin VFITC+PI- (%)	Annexin VFITC+PI+ (%)	К-во лейкоцитов /л	АЧН	Г-КСФ пг/мл	sFas-L пг/мл	ФРФ пг/мл
P	0,001	0,00048	8E-05	7,8E-05	8,4E-05	0,0002	0,31	0,00015	0,00048
Медиана	0,5	4,5	7,8	0,1	11,6	490,7	2,1	6360,0	31,8
1 квартиль	0,3	2,9	5,5	0,1	9,7	360,3	1,5	5705,0	24,7
3 квартиль	0,7	5,3	9,6	0,4	18,1	746,3	4,3	9040,0	47,0

Выводы

У новорожденных с тяжелой респираторной патологией чр-ГКСФ не только увеличивает содержание зрелых активных нейтрофилов в периферической крови, но и снижает негативную активацию иммунокомпетентных клеток, нормализует процесс апоптоза, активирует клеточную пролиферацию и усиливает антиапоптогенную активность.

Своевременная коррекция апоптоза Т-лимфоцитов

крови чр-ГКСФ эффективно и безопасно профилактирует развитие сепсиса у новорожденных с респираторной патологией, находящихся на ИВЛ.

Новорожденных с респираторной патологией на ИВЛ, имеющих при поступлении в отделение реанимации высокое содержание лимфоцитов в раннем (более 9,59%) и позднем (более 0,56%) апоптозе, следует относить к группе риска по развитию нейтропении и бактериальных осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стародубов В.И., Цыбульская И.С., Суханова Л.П. Охрана здоровья матери и ребенка, как приоритетная проблема современной России // Современные медицинские технологии. – 2009. – №2. – С. 11-16.2.
2. Антонов А.Г., Володин Н.Н., Гребенников В.А. и др. Принципы ведения новорожденных с респираторным дистресс-синдромом: Метод. рекомендации. - М.: Б. и., 2002. - С. 14 -18.
3. Деметьева Г.М. Пульмонологические проблемы в неонатологии.



- логии // Пульмонология. - 2002. - № 12. - С. 6 -12.
4. Gessler P., Luders R., Konig S. et al. Neonatal neutropenia in low birthweight premature infants // Am. J. Perinatol. - 1995. Vol.12. - P. 34-38.
 5. Gillan E.R., Christensen R.D., Yu Suen et al. A randomized, placebo-controlled trial of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration in newborn infants with presumed sepsis: significant induction of peripheral and bone marrow neutrophilia // Blood. - 1994. -Vol. 84. - P. 1427-1433.
 6. Carr R., Modi N., Doré C. G-CSF and GM-CSF for treating or preventing neonatal infections. // Cochrane Database Syst Rev. 2003; (3).
 7. Эстрин В.В., Пухтинская М.Г., Ефанова Е.А. Профилактика и терапия бактериальных осложнений рекомбинантным гранулоцитарным колониестимулирующим фактором у новорожденных в критических состояниях. – Ростов-на-Дону: Изд. Феникс, 2007. – С. 64-69.
 8. Пухтинская М.Г., Эстрин В.В. Критерии назначения чр-ГКСФ новорожденным с РДС. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2010. - № 6. – С. 11-12.
 9. Manroea B.L., Weinberg A.G., Rosenfeld C.R., Browne R. The neonatal blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophilic cells // J. Pediatr. – 1979. – Vol. 95. – P. 89-98.
 10. Исаков Ю. Ф., Белобородова Н. В. Сепсис у детей.- М.: Изд. Мокеев, 2001. - С. 44-45.
 11. Эстрин В.В., Пухтинская М.Г., Ефанова Е.А. Профилактика и терапия бактериальных осложнений рекомбинантным гранулоцитарным колониестимулирующим фактором у новорожденных в критических состояниях. – Ростов-на-Дону: Изд. Феникс, 2007. – С. 154-199.

ПОСТУПИЛА 26.07.2013

УДК 612.014.4+618.2:618:36:618.29+618.3

**Н.А. Рогова, Т.Л. Боташева, А.В. Черноситов,
Л.В. Каушанская, Е.М. Александрова**

ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННЫХ БИОРИТМОВ РАЗЛИЧНЫХ ЗВЕНЬЕВ СИСТЕМЫ «МАТЬ-ПЛАЦЕНТА-ПЛОД» В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЕЕ СТЕРЕОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ И ОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

*Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии
Россия, 344012 г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова 43. E-mail:secretary@rniiap.ru*

Цель: изучение сезонной периодичности возникновения стереоизомерии маточно-плацентарного комплекса, массы тела новорожденных, хроноструктуры мезоритмов контрактильной активности правых и левых отделов матки.

Материалы и методы: ретроспективно проанализированы 2215 обменных карт и историй родов женщин. Изучен характер течения беременности, родов, весо-ростовые показатели новорожденных, протоколы ультразвукового исследования, механогистерографическое исследования матки.

Результаты: обнаружено, что частота встречаемости угрозы преждевременных родов, а также двустороннего паттерна маточной активности, характерного для нее, имела период 7 мес. Увеличение числа крупных детей отмечалось осенью и зимой, в летний период чаще рождались дети с низкой массой тела.

Заключение: факторы внешней среды, меняющиеся в различные сезоны года, через эпифизарно-гипоталамические и центропериферические взаимоотношения влияют на функциональные процессы в различных звеньях функциональной системы «мать-плацента-плод», способствуют инициации маточной активности, могут ускорять или замедлять процессы созревания плода, влиять на период подготовки организма к родам и характер самих родов.

Ключевые слова: физиологическое и осложненное течение беременности, сезонные биоритмы, функциональная система «мать-плацента-плод», плацентарная латерализация.