

На правах рукописи

РОДИНА Мария Александровна

**СОДЕРЖАНИЕ КАТЕЛИЦИДИНА LL 37
И ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА
ФАРИНГЕАЛЬНЫХ АСПИРАТОВ
У ГЛУБОКОНЕДОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ
С ДЫХАТЕЛЬНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ**

14.01.08 – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Иваново – 2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук,
профессор **Чаша Татьяна Валентиновна**

Официальные оппоненты:

Дашичев Валериан Валерианович,
доктор медицинских наук, профессор,
ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия»
Минздрава России, профессор кафедры факультетской педиатрии
с пропедевтикой детских болезней

Шниткова Елена Васильевна,
доктор медицинских наук, профессор,
ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия»
Минздрава России, профессор кафедры детских болезней лечебного факультета

Ведущая организация — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр здоровья детей» Российской академии медицинских наук.

Защита диссертации состоится «___» _____ 2014 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.027.01 при государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 153012, г. Иваново, Шереметевский просп., д. 8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Автореферат разослан «___» _____ 20___ г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук,
профессор

Жданова Людмила Алексеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность научного исследования

В структуре заболеваемости и смертности у новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела патология органов дыхания является одной из самых распространенных (Дементьева Г. М. и др., 2004; Тресорукова О. В., 2007; Павлинова Е. Б. и др., 2010; Ионов О. В. и др., 2013).

Лечение глубоконедоношенных детей является длительным, трудоемким и материально затратным, а летальность от дыхательных расстройств, особенно от врожденной пневмонии, у этой категории новорожденных по-прежнему остается высокой (Бениова С. Н. и др., 2008; Дементьева Г. М., 2010; Царегородцев А. Д., 2011; Яцык Г. В., 2011; Зубков В. В. и др., 2012; Байбарина Е. Н., 2012). Поэтому большое значение имеет поиск новых объективных и информативных методов прогнозирования возможных исходов и оценки эффективности лечения дыхательных расстройств, что позволит улучшить результаты выхаживания этих детей.

В последние годы повышенное внимание уделяется исследованию эндогенных антимикробных пептидов, в частности кателицидина (КЦ) LL 37, которые являются компонентами врожденного иммунитета и играют важную роль в защите организма от инфекции (Кокряков В. Н. и др., 2006; Абатуров А. Е., 2011; Кулакова Е. В. и др., 2012; Zanetti M., 2004). Результаты исследования КЦ LL 37 у глубоконедоношенных новорожденных немногочисленны, что определяет необходимость продолжения исследований в этом направлении.

Цитологическое исследование фарингеальных аспиратов является простым неинвазивным методом, позволяющим проводить оценку клеточного состава и характер патологического процесса в легочной ткани, а изучение изменений цитограммы в динамике раннего неонатального периода позволит оценить эффективность проводимого лечения и вовремя внести коррекцию (Авдеев С. Н., 1998; Волкова Л. И. и др., 2004; Добрых В. А., 2013). Все вышеизложенное обусловило необходимость проведения данного исследования.

Цель научного исследования – на основании изучения содержания кателицидина LL 37 в сыворотке крови и фарингеальном аспирате, клеточного состава фарингеальных аспиратов обосновать новые критерии оценки эффективности лечения и прогнозирования исходов дыхательных расстройств у глубоконедоношенных новорожденных.

Задачи научного исследования

1. Выявить преобладающие нозологические формы дыхательных расстройств у глубоконедоношенных новорожденных и дать их клиническую характеристику в зависимости от исходов заболевания.

2. Установить антенатальные факторы риска рождения глубоконедоношенных новорожденных с инфекционными дыхательными расстройствами.
3. Выявить особенности содержания кателицидина LL 37 в сыворотке крови и фарингеальном аспирате у детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении с различными нозологическими формами дыхательных расстройств.
4. Дать оценку клеточного состава фарингеальных аспиратов у глубоконедоношенных детей с респираторным дистресс-синдромом, врожденной и неонатальной пневмонией в динамике лечения.
5. Разработать объективные критерии оценки эффективности лечения и прогнозирования исходов врожденной пневмонии у новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении.

Научная новизна исследования

Выявлено увеличение содержания кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате у глубоконедоношенных новорожденных с врожденной пневмонией, что связано с активацией местного иммунитета. Показано недостаточное включение этого защитного механизма у глубоконедоношенных новорожденных в случае гибели ребенка от данной патологии.

Установлено увеличение содержания кателицидина LL 37 в сыворотке крови у глубоконедоношенных новорожденных с дыхательными расстройствами к возрасту одного месяца, свидетельствующее о повышении функциональной активности нейтрофилов в динамике неонатального периода.

Показаны структурные особенности альвеолоцитов в фарингеальном аспирате у детей, родившихся с очень низкой и экстремально низкой массой тела, при врожденной, неонатальной пневмонии и респираторном дистресс-синдроме в динамике раннего неонатального периода.

Обосновано значение определения содержания кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате у глубоконедоношенных новорожденных для прогнозирования исходов врожденной пневмонии и изучения состояния альвеолоцитов при цитологическом исследовании фарингеальных аспиратов для оценки эффективности ее лечения.

Практическая значимость исследования

Разработан новый способ прогнозирования исходов врожденной пневмонии у глубоконедоношенных новорожденных, основанный на определении содержания кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате в 1–2 сутки жизни.

Предложен способ оценки эффективности лечения врожденной пневмонии у детей, родившихся с очень низкой и экстремально низкой массой тела,

путем цитологического исследования фарингеальных аспиратов в динамике раннего неонатального периода.

Показаны особенности клинической характеристики глубоконеодошенных новорожденных с врожденной пневмонией в зависимости от ее исхода.

Положение, выносимое на защиту

Дыхательные расстройства в неонатальном периоде имеются у всех глубоконеодошенных новорожденных и сопровождаются изменениями содержания кателицидина LL 37 в сыворотке крови и фарингеальном аспирате, а также клеточного состава фарингеальных аспиратов.

Неблагоприятный исход врожденной пневмонии сопряжен с низким уровнем кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате.

Оценка эффективности проводимого лечения может быть осуществлена путем цитологического исследования фарингеальных аспиратов в динамике лечения.

Внедрение результатов в практику

Результаты исследования и вытекающие из них рекомендации внедрены в практику работы врачей-неонатологов и анестезиологов-реаниматологов перинатального центра ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Получена приоритетная справка на изобретение «Способ оценки эффективности лечения пневмонии у новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела» № 2013107145 от 20.02.2013 года.

Получена приоритетная справка на изобретение «Способ прогнозирования исходов врожденной пневмонии у глубоконеодошенных новорожденных» № 2013146411 от 18.10.2013 года.

Апробация работы

Результаты исследования доложены и обсуждены на ежегодной научно-практической конференции молодых ученых ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава России (Иваново, 2011, 2013), на 93-й научной конференции студентов и молодых учёных ИвГМА «Неделя науки – 2013» с международным участием (Иваново, 2013), I Съезде детских врачей Ивановской области (Иваново, 2011), на V Российской конференции «Иммунология репродукции. Теоретические и клинические аспекты» (Иваново, 2012), на XVII Съезде педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2013), на VI Всероссийском образовательном конгрессе «Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии» (Москва, 2013).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 3 – в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 134 страницах печатного текста и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, главу, посвященную результатам собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации. Список использованной литературы включает 87 отечественных и 68 иностранных источников. Диссертация иллюстрирована 29 таблицами и 13 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В соответствии с поставленными целью и задачами были обследованы 104 глубоко недоношенных ребенка. В ходе исследования все дети были разделены на три группы: I группа – 11 детей с респираторным дистресс-синдромом (РДС), II группа – 61 ребенок с врожденной пневмонией, III группа – 32 новорожденных, у которых на фоне РДС развилась неонатальная пневмония. II группа в зависимости от исходов заболевания была разделена на 3 подгруппы: II.1. – 37 детей, выздоровевших от пневмонии, II.2. – 12 новорожденных, умерших от врожденной пневмонии, II.3. – 12 пациентов, у которых в исходе врожденной пневмонии сформировалась бронхолегочная дисплазия.

Клиническое обследование новорожденных включало анализ данных материнского анамнеза (социально-биологического, соматического, акушерско-гинекологического), течения беременности и родов.

Наблюдение за детьми проводилось ежедневно до выписки из стационара и включало оценку состояния органов и систем. Особое внимание уделялось обследованию органов дыхания. Всем новорожденным проводилось стандартное лабораторно-инструментальное обследование.

Исследование содержания КЦ LL 37 в сыворотке крови и фарингеальном аспирате проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов фирмы «Hycult Biotech» (Нидерланды). Обработка результатов выполнялась на автоматическом ридере «EL 808» фирмы «BIO-TEK INSTRUMENTS» (США). Результат выражался в нг/мл. Забор крови осуществлялся из периферических вен в 1-е сутки жизни ребенка и в возрасте 1 месяца, фарингеального аспирата – в 1–2-й день жизни по стандартной методике.

Для цитологического исследования фарингеальных аспиратов в динамике раннего неонатального периода (1–2-й день и через 3–4 дня) использовался клеточный концентрат, отобранный после центрифугирования, из которого готовились мазки. Приготовленные мазки окрашивались по Граму, а также гематоксилином-эозином. Оценка клеточного состава включала подсчет эпителиальных клеток (альвеоцитов, клеток реснитчатого эпителия) и полиморфноядерных лейкоцитов. Результат выражался в процентах при сплошном подсчете не менее 100 клеток. Исследование проводилось на световом микроскопе «Micros» (Австрия) с увеличением в 1 000 раз.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета компьютерных программ Microsoft Excel 2003, версия 7.0, Statistica 6.1., MedCalc, Open Epi. Анализ количественных показателей проводился с учетом ненормального распределения признака с подсчетом медианы (Me) и интерквартильных размеров – UQ-LQ (25%–75% процентиля). Оценка уровня значимости различий между исследуемыми признаками (p) проводилась путем определения критериев Манна – Уитни, Колмогорова – Смирнова, Вальда – Вольфовица. Для выяснения связи между изучаемыми показателями проводился корреляционный анализ с определением коэффициента корреляции Спирмена (R).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ анамнестических данных показал, что у матерей всех обследованных новорожденных имелись перинатальные факторы риска в виде отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза, экстрагенитальной патологии, осложненного течения беременности и родов, ведущих к развитию фетоплацентарной недостаточности и антенатальной гипоксии плода. Однако женщины, родившие детей с пневмониями, значимо чаще страдали инфекционно-воспалительными заболеваниями гениталий и мочевыделительной системы, имели в анамнезе искусственные медицинские аборт и самопроизвольные выкидыши перед настоящей беременностью.

При оценке состояния обследованных новорожденных было выявлено, что все они родились в тяжелом и крайне тяжелом состоянии, которое было обусловлено дыхательной недостаточностью, неврологической симптоматикой и выраженной незрелостью. Однако дети с пневмониями значимо чаще имели крайне тяжелое состояние при рождении по сравнению с детьми с РДС.

Все обследованные пациенты родились в состоянии асфиксии, однако в тяжелой асфиксии значимо чаще рождались дети с пневмониями, чем с РДС. Степень дыхательной недостаточности при рождении оценивалась по шкале Downes, при этом тяжелая дыхательная недостаточность значимо чаще наблюдалась у детей с пневмониями.

С целью купирования симптомов дыхательной недостаточности всем пациентам проводилась респираторная терапия. Выбор метода респираторной поддержки определялся тяжестью дыхательных нарушений. Традиционная искусственная вентиляция легких (ИВЛ) значительно чаще применялась у детей с врожденной пневмонией по сравнению с РДС, а неинвазивная ИВЛ методом назального СРАР – значительно чаще у детей с РДС и неонатальной пневмонией.

Все обследованные новорожденные, кроме дыхательных расстройств, имели сопутствующую патологию. Перинатальное поражение центральной нервной системы (ПП ЦНС) было диагностировано у всех пациентов и в подавляющем большинстве случаев имело гипоксический генез. Наиболее часто во всех группах выявлялась церебральная ишемия II степени, а церебральная ишемия III степени значительно чаще имела место у детей с врожденной пневмонией по сравнению с РДС.

Внутричерепные кровоизлияния наблюдались у всех глубоконедоношенных детей с дыхательными расстройствами. Тяжелые геморрагические ПП ЦНС были диагностированы лишь у детей с пневмониями. В группе детей с врожденной пневмонией внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) III степени, кровоизлияние в заднюю черепную ямку значительно чаще регистрировались у умерших по сравнению с выжившими.

Сопутствующая инфекционно-воспалительная патология у новорожденных всех групп наиболее часто была представлена некротизирующим энтероколитом (30,8%) и пиелонефритом (29,8%). В единичных случаях выявлялись конъюнктивит, омфалит, гепатит, системный кандидоз желудочно-кишечного тракта и мочевыделительной системы.

Анализ результатов клинического обследования дыхательной системы показал, что РДС характеризовался изменением цвета кожных покровов в виде общей цианотичности, цианоза носогубного треугольника, акроцианоза, участием вспомогательной мускулатуры в акте дыхания (раздувание крыльев носа, втяжение межреберных промежутков, западение грудины), наличием парадоксального дыхания, экспираторных шумов. При перкуссии отмечалось укорочение перкуторного тона, при аускультации выслушивалось ослабленное дыхание, крепитирующие хрипы на высоте вдоха с первых часов жизни. При рентгенологическом исследовании грудной клетки наиболее частым признаком РДС было диффузное снижение прозрачности легочных полей, реже наблюдались полоски просветлений в области корня легкого (воздушная бронхограмма), участки рассеянных мелких ателектазов.

Врожденная пневмония характеризовалась наличием признаков дыхательной недостаточности II–III степени уже с рождения, однако выраженность ее симптомов была различной в подгруппах в зависимости от исходов заболевания. У умерших новорожденных и детей со сформировавшейся впоследствии бронхолегочной дисплазией (БЛД) самостоятельное дыхание при

рождении было неэффективным или отсутствовало в 100% случаев, поэтому им потребовалось проведение традиционной ИВЛ в качестве стартового метода респираторной поддержки, а у выздоровевших – в 43,2%. Наряду с участием вспомогательной мускулатуры в акте дыхания наблюдалась выраженная одышка смешанного характера (70–100 дыханий в минуту), парадоксальное дыхание. Эпизоды апноэ чаще регистрировались у детей с исходом пневмонии в БЛД. Перкуторный тон был укорочен, при аускультации дыхания было очень ослабленным, с первых часов жизни у всех больных выслушивались крепитирующие и мелкопузырчатые хрипы. У большинства детей (63,5%), находившихся на механической ИВЛ, при санации трахеобронхиального дерева полученная мокрота имела слизисто-гнойный и гнойный характер. У всех новорожденных данной группы также имелись клинические признаки интоксикации в виде мраморности, бледности или серого колорита кожных покровов, у части детей (29,5%) наблюдались срыгивания, вздутие живота, наличие остаточного содержимого желудка, зачастую с примесью желчи. При рентгенологическом исследовании органов грудной клетки наличие очаговых теней на рентгенограмме было выявлено у 14,4% детей данной группы, тогда как усиление бронхо-сосудистого рисунка – в 3,3 раза чаще (у 47,1%).

Анализ гестационного возраста новорожденных при различных исходах врожденной пневмонии показал, что более зрелыми (28–31 неделя) оказались дети, выздоровевшие от пневмонии (78,4; 33,3 и 33,3% в П.1., П.2., П.3. подгруппах соответственно; $p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-3} < 0,05$). Умершие дети значительно чаще, чем выздоровевшие, рождались с экстремально низкой массой тела (48,6; 83,3% соответственно; $p_{1-2} < 0,05$).

Неонатальная пневмония у обследованных была диагностирована на 4–6-й день жизни. У всех детей, вошедших в данную группу, на фоне существующего ранее РДС отмечалось нарастание клинических и лабораторных признаков дыхательной недостаточности, увеличение потребности в более высоких концентрациях кислорода, появление признаков интоксикации, нарушение усвоения энтерального питания, возникновение или учащение апноэ, наблюдалась отрицательная динамика показателей общего анализа крови (появление нейтрофильного лейкоцитоза, сдвига лейкоцитарной формулы влево), повышение уровня С-реактивного белка и прокальцитонина, нарастание гипоксии, гиперкапнии и ацидоза по данным газового состава и кислотно-основного состояния крови.

Анализ летальности глубококонедоношенных новорожденных с дыхательными расстройствами позволил установить, что наиболее высокий показатель отмечался в группе детей с врожденной пневмонией (19,7%), чем с РДС (9,1%) и неонатальной пневмонией (9,4%) ($p_{I-II-III} > 0,05$).

В результате исследования были установлены уровни КЦ LL 37 в сыровотке крови (в 1-й день и 1-й месяц жизни) и фарингеальном аспирате (1–2-й

день жизни) у глубоконедоношенных новорожденных с РДС, врожденной и неонатальной пневмонией.

Содержание КЦ LL 37 в сыворотке крови, полученной в 1-е сутки жизни, у новорожденных всех групп значимо не различалось. К возрасту одного месяца жизни было выявлено значимое увеличение уровня КЦ LL 37 у всех новорожденных с дыхательными расстройствами, однако в группе с врожденной пневмонией рост показателя был менее выражен. Полученный результат может быть следствием усиления антигенных влияний со стороны факторов внешней среды на организм ребенка после рождения. Кроме того, учитывая, что у новорожденных функциональная активность нейтрофилов снижена, а антимикробные пептиды являются маркерами системной активации нейтрофилов, то увеличение уровня КЦ LL 37 в сыворотке крови в динамике неонатального периода может также свидетельствовать об увеличении функциональной активности нейтрофилов у глубоконедоношенных новорожденных.

Анализ содержания КЦ LL 37 в сыворотке крови в возрасте 1-го месяца жизни позволил выявить, что уровень его в группе детей с РДС был в 1,4 раза выше по сравнению с таковым при врожденной пневмонии (9,4 и 6,6 нг/мл соответственно; $p_{I-II} < 0,05$) и в 1,3 раза выше – по сравнению с неонатальной (9,4 и 7,05 нг/мл соответственно; $p_{I-III} > 0,05$). По-видимому, более низкий уровень КЦ LL 37 в сыворотке крови у детей с врожденной пневмонией по сравнению с РДС может являться результатом развившейся недостаточности факторов врожденного иммунитета на фоне длительного течения инфекционно-воспалительного заболевания.

Исследование содержания КЦ LL 37 в фарингеальном аспирате показало, что у детей с врожденной пневмонией уровень этого белка был в 1,6 раза выше, чем с РДС (6,8; 10,9 и 10,1 нг/мл соответственно; $p_{I-II} < 0,05$). По сравнению с группой пациентов с неонатальной пневмонией данный показатель значимо не различался. Выявленные различия согласуются с данными, полученными S. Schaller-Bals et al. (2002) при исследовании уровня этого протеина у новорожденных с инфекционно-воспалительной патологией и, по нашему мнению, связаны с активацией местного иммунитета в ответ на инфекцию у детей с врожденной пневмонией и усиленной продукцией антимикробного КЦ LL 37 в очаге воспаления, что имеет защитный характер.

Содержание КЦ LL 37 в фарингеальном аспирате у глубоконедоношенных новорожденных с врожденной пневмонией сопряжено с исходами заболевания: уровень его у умерших детей был значимо ниже, чем у выживших (12,8; 7,9 и 26,6 нг/мл соответственно; $p_{1-2} < 0,05$, $p_{2-3} < 0,05$), что, мы полагаем, может являться результатом недостаточности факторов врожденного иммунитета у умерших пациентов. Сопряженность уровня КЦ LL 37 в фарингеальном аспирате с исходами врожденной пневмонии была подтверждена

также при проведении ROC-анализа. Относительный риск (Relative Risk) летального исхода врожденной пневмонии у глубоко недоношенных детей с более низкими значениями КЦ LL 37 (менее 10,2 нг/мл) в фарингеальном аспирате был выше в 13,5 раза ($p = 0,0002$).

При проведении корреляционного анализа в группе детей с врожденной пневмонией была установлена значимая положительная взаимосвязь между уровнем КЦ LL 37 в сыворотке крови в 1-й день жизни и количеством дней проведения ИВЛ ($R = 0,3$; $p = 0,03$), между уровнем КЦ LL 37 в фарингеальном аспирате и числом дней ИВЛ ($R = 0,5$; $p = 0,001$), антибактериальной терапии ($R = 0,4$; $p = 0,002$), иммунной терапии ($R = 0,3$; $p = 0,04$). Полученные данные указывают, что содержание КЦ как в сыворотке крови, так и в фарингеальном аспирате выше у детей с тяжелым течением врожденной пневмонии, требующей проведения более длительной ИВЛ, антибактериальной и иммунной терапии. Установленная положительная связь между уровнем КЦ LL 37 в фарингеальном аспирате и количеством нейтрофилов в общем анализе крови в 1-й день жизни ($R = 0,3$; $p = 0,04$) у детей с врожденной пневмонией свидетельствует об активации нейтрофилов и интенсивной выработке ими защитного КЦ в очаге воспаления. В группе детей с РДС подобные корреляции выявлены не были, поскольку нейтрофилы при данной патологии не вырабатывают активно антимикробный КЦ, необходимый для защиты организма от инфекционного воспаления. В группе детей с неонатальной пневмонией подобные взаимосвязи также не наблюдались, поскольку на момент забора фарингеального аспирата (1–2-е сутки жизни) у них еще отсутствовали воспалительные изменения в легких.

Анализ клеточного состава фарингеальных аспиратов (1–2-е сутки жизни) показал, что альвеолоциты выявлялись в мазках у всех обследованных. Во всех группах новорожденных более половины альвеолоцитов находились в состоянии дистрофии, однако некробиотические и некротические процессы в 1,4 раза чаще выявлялись у детей с врожденной пневмонией, чем у детей с РДС и неонатальной пневмонией. Значимые различия сохранялись между группами с врожденной пневмонией и РДС также при повторном обследовании (через 3–4 дня) ребенка. Согласно литературным данным, выявленные различия обусловлены прямым токсическим воздействием на клетки альвеолярного эпителия продуктов жизнедеятельности вирусов и бактерий у детей с врожденной пневмонией, приводящим к патологическому омертвлению клеток (некрозу), а также более выраженным повреждающим действием ИВЛ на альвеолярный эпителий. У большинства детей с неонатальной пневмонией к этому времени уже имелись клинические проявления воспалительного процесса в легких, поэтому значимых различий между количеством альвеолоцитов в состоянии некробиоза/некроза с группой детей с врожденной пневмонией выявлено не было.

При исследовании клеточного состава фарингеальных аспиратов в динамике проводимого лечения было установлено значимое снижение количества деструктивных форм альвеолоцитов (в состоянии некробиоза/некроза) и повышение числа альвеолоцитов с дистрофией у новорожденных с врожденной пневмонией, в совокупности указывающие на доминирование обратимых изменений в клетках. Такие изменения показателей цитограммы наблюдались у 80,4% новорожденных, что одновременно сопровождалось улучшением клинической картины заболевания, а также положительной динамикой в общем и биохимическом анализе крови. У 19,6% детей наряду с нарастанием тяжести течения врожденной пневмонии наблюдалось увеличение числа деструктивных форм альвеолоцитов, что позволило сделать заключение о неэффективности проводимой терапии. У детей с РДС и неонатальной пневмонией значимых различий по данному показателю в динамике лечения выявлено не было.

Полиморфноядерные лейкоциты в мазках фарингеальных аспиратов (1–2-й день жизни) были выявлены только у детей с врожденной пневмонией, что подтверждает наличие у них воспалительного процесса в легочной ткани. В повторных мазках, полученных через 3–4 дня, лейкоциты встречались лишь у новорожденных с пневмониями.

Корреляционный анализ в группе глубоконедоношенных детей с врожденной пневмонией выявил значимую положительную связь между числом альвеолоцитов в состоянии некробиоза/некроза в мазках фарингеальных аспиратов, полученных на 1–2-й день жизни, и уровнем С-реактивного белка в сыворотке крови на 2–3-й день ($R = 0,5$; $p = 0,04$), числом дней ИВЛ ($R = 0,5$; $p = 0,04$) и введений сурфактанта ($R = 0,5$; $p = 0,03$). Из совокупных данных следует, что число альвеолоцитов в состоянии некробиоза/некроза в мазках фарингеальных аспиратов выше у детей с более тяжелым течением врожденной пневмонии, которые имели более высокий уровень белка острой фазы воспаления (С-реактивного белка), потребовали проведения более длительной ИВЛ, а также повторного введения сурфактанта. Установленная значимая отрицательная связь между числом альвеолоцитов с дистрофией в мазках фарингеальных аспиратов, полученных при повторном обследовании, и числом дней ИВЛ ($R = -0,5$; $p = 0,04$) является подтверждением того, что у детей с более высоким количеством альвеолоцитов с обратимыми изменениями (дистрофия) в повторных мазках врожденная пневмония протекала более благоприятно.

Исследование содержания КЦ LL 37 в сыворотке крови и фарингеальном аспирате, а также клеточного состава фарингеальных аспиратов позволили разработать новые способы прогнозирования исходов и оценки эффективности лечения врожденной пневмонии у глубоконедоношенных новорожденных.

ВЫВОДЫ

1. Все глубоконедоношенные новорожденные в неонатальном периоде имели дыхательные расстройства, которые были представлены респираторным дистресс-синдромом, а также врожденной и неонатальной пневмонией, частота которых была наиболее высокой. Новорожденные, умершие от врожденной пневмонии, чаще рождались на сроке гестации менее 28 недель и имели экстремально низкую массу тела при рождении, чем выздоровевшие; у них чаще выявлялись тяжелые геморрагические поражения центральной нервной системы: внутрижелудочковое кровоизлияние III степени, кровоизлияние в заднюю черепную ямку.
2. Значимыми антенатальными факторами риска рождения глубоконедоношенных детей с инфекционными дыхательными нарушениями являются инфекционно-воспалительные заболевания гениталий и мочевыделительной системы у матерей, искусственные медицинские аборт и самопроизвольные выкидыши перед настоящей беременностью.
3. У детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении уровень кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате сопряжен с клиническими вариантами дыхательных расстройств: при врожденной пневмонии содержание этого антимикробного пептида значимо выше, чем при респираторном дистресс-синдроме.
4. Содержание кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате в 1–2-е сутки жизни у глубоконедоношенных новорожденных с врожденной пневмонией коррелирует с длительностью искусственной вентиляции легких, антибактериальной и иммунной терапии.
5. У глубоконедоношенных новорожденных с врожденной пневмонией в раннем неонатальном периоде при цитологическом исследовании фарингеальных аспиратов число альвеолоцитов в состоянии некробиоза/некроза и лейкоцитов выше, чем у детей с респираторным дистресс-синдромом и неонатальной пневмонией. В процессе лечения при врожденной пневмонии отмечается снижение количества указанных клеток легочного эпителия и повышение числа альвеолоцитов с дистрофией.
6. Уровень кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате у глубоконедоношенных новорожденных с врожденной пневмонией имеет прогностическое значение, неблагоприятный ее исход связан с низким значением этого показателя, что дает возможность раннего прогнозирования исхода данного заболевания.
7. Стабильное количество или снижение числа альвеолоцитов в состоянии некробиоза/некроза в фарингеальном аспирате в динамике лечения свидетельствует об эффективности терапии врожденной пневмонии у глубоконедоношенных новорожденных. Повышение данного показателя цитограммы указывает на неэффективность проводимого лечения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для прогнозирования исходов врожденной пневмонии у глубоконедоношенных новорожденных рекомендуется определение содержания кателицидина LL 37 в разовой порции фарингеального аспирата в 1–2-е сутки жизни. При его уровне, равном 10,2 нг/мл или более, прогнозируется благоприятный исход врожденной пневмонии, а при значении менее 10,2 нг/мл – летальный исход.

Для оценки эффективности лечения пневмонии у глубоконедоношенных новорожденных показано проводить цитологическое исследование фарингеальных аспириатов в динамике неонатального периода. При снижении или отсутствии изменения количества альвеолоцитов в состоянии некробиоза/некроза относительно исходного уровня лечение оценивается как эффективное, а при повышении – как неэффективное.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России

1. Особенности эндопульмональной цитограммы у новорожденных с дыхательными расстройствами, родившихся с экстремально низкой массой тела / **М. А. Родина**, Н. А. Шилова, Т. В. Чаша [и др.] // Российский иммунологический журн. – 2012. – Т 6(14), № 2(1). – С. 147–148.
2. Динамика содержания кателицидина LL 37 у глубоконедоношенных новорожденных с дыхательными расстройствами в неонатальном периоде / **М. А. Родина**, Н. А. Шилова // Российский иммунологический журн. – 2013. – Т. 7(16), № 2–3. – С. 317–318.
3. Цитологическое исследование фарингеальных аспириатов как дополнительный способ диагностики и оценки эффективности лечения врожденной пневмонии у глубоконедоношенных новорожденных / Н. А. Шилова, **М. А. Родина**, Т. В. Чаша, Е. В. Проценко // Врач-аспирант. – 2013. – № 6.1 (61). – С. 239–244.

Прочие публикации

4. Бронхолегочная дисплазия: факторы риска, прогнозирование, профилактика / Н. А. Шилова, Т. В. Чаша, **М. А. Родина** // Материалы I Съезда детских врачей Ивановской области. – Иваново, 2011. – С. 26–27.
5. Эндопульмональная цитограмма как дополнительный способ дифференциальной диагностики дыхательных расстройств у глубоконедоношенных новорожденных / Н. А. Шилова, Т. В. Чаша, **М. А. Родина** // Сборник материалов XV Конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии». – М., 2011. – С. 977.
6. Особенности эндопульмональной цитограммы у глубоконедоношенных новорожденных / Н. А. Шилова, Т. В. Чаша, **М. А. Родина** [и др.] //

- Материалы I Международного конгресса и VI Ежегодного конгресса по перинатальной медицине. – М., 2011. – С. 169.
7. Клиническая характеристика детей с бронхолегочной дисплазией / С. С. Межинский, Н. А. Шилова, Т. В. Чаша, **М. А. Родина** // Материалы I Международного конгресса и VI Ежегодного конгресса по перинатальной медицине. – М., 2011. – С. 113.
 8. Цитологическая картина трахеальных аспиратов у недоношенных детей с врожденной пневмонией / Н. А. Шилова, Т. В. Чаша, **М. А. Родина**, Е. В. Проценко // Материалы VII междисциплинарной конференции по акушерству, перинатологии, неонатологии «Здоровая женщина – здоровый новорожденный» // Бюллетень ФЦСКЭ им. В. А. Алмазова. – СПб., 2012. – С. 47.
 9. Дифференциальная диагностика дыхательных расстройств у глубоконедоношенных детей с использованием цитологического метода / Н. А. Шилова, **М. А. Родина**, Е. В. Проценко, Т. В. Чаша // Сборник материалов XVII Съезда педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии». – М., 2013. – С. 757.
 10. Значение исследования эндопульмональной цитограммы при дыхательных расстройствах у глубоконедоношенных новорожденных / **М. А. Родина** // Материалы 93-й Ежегодной научной конференции студентов и молодых ученых «Неделя науки – 2013» с международным участием. – Иваново, 2013. – С. 172.
 11. Особенности содержания кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате у глубоконедоношенных новорожденных с различными исходами внутриутробной пневмонии / Н. А. Шилова, **М. А. Родина**, Т. В. Чаша, И. Г. Попова // Сборник трудов XXIII Национального конгресса по болезням органов дыхания. – Казань, 2013. – С. 108–109.
 12. Содержание антимикробных пептидов (кателицидина LL 37) у глубоконедоношенных новорожденных с различными формами дыхательных расстройств / **М. А. Родина**, Н. А. Шилова, Т. В. Чаша // Материалы VI Всероссийского образовательного конгресса «Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии». – М., 2013. – С. 100–101.
 13. Организация помощи детям с экстремально низкой массой тела при рождении в Ивановской области / А. И. Малышкина, Т. В. Чаша, Н. В. Харламова, О. Н. Песикин, Н. А. Шилова, Т. В. Самсонова, С. С. Межинский, **М. А. Родина**, Ю. А. Фисюк // Материалы VI Всероссийского образовательного конгресса «Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии». – М., 2013. – С. 84–85.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИВЛ	искусственная вентиляция легких
КЦ	кателицидин
ПП ЦНС	перинатальное поражение центральной нервной системы
РДС	респираторный дистресс-синдром

РОДИНА Мария Александровна

СОДЕРЖАНИЕ КАТЕЛИЦИДИНА LL 37
И ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА
ФАРИНГЕАЛЬНЫХ АСПИРАТОВ
У ГЛУБОКОНЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ
С ДЫХАТЕЛЬНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать 06.02.2014. Формат 60×84 ¹/₁₆.
Печ. л. 1,0. Тираж 75 экз.

ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия»
Минздрава России
153012, г. Иваново, Шереметевский просп., 8