МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Государственное учреждение
РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
«МАТЬ И ДИТЯ»

СОВРЕМЕННЫЕ ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ
МЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ
В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМ
ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ

Основан в 2008 году

Выпуск 12

Минск
2019

РОЛЬ ГОМОЦИСТЕИНА В ФОРМИРОВАНИИ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПАЗИИ

Парамонова Н.С., Синица Л.Н., Наумов А.В., Дорошенко Е.М.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь*

Резюме. Бронхолегочная дисплазия (БЛД) представляет собой полиэтиологическое заболевание, которое развивается преимущественно у недоношенных детей, имеющих морфо-функционально незрелые легкие. При этом поражаются бронхиолы и паренхима легких, развивается фиброз, эмфизема, нарушается репликация альвеол. В ходе исследования были изучены особенности антенатального анамнеза пациентов с бронхолегочной дисплазией, а также течение неонатального периода. Достоверно чаще у младенцев с БЛД развивалась коморбидная патология – ретинопатия недоношенных, тяжелая анемия, требовавшая гемокоррекции в первые трое суток жизни, задержка темпов физического развития. Исследование уровня гомоцистеина и глутатиона в сыворотке крови показало, что формирование специфических изменений в легких сопровождается значительным ростом концентрации гомоцистеина (в 4 раза) без адекватного увеличения содержания глутатиона.

Ключевые слова: недоношенные дети, бронхолегочная дисплазия, гомоцистеин, глутатион.

Введение. По оценкам ВОЗ ежегодно около 15–20 миллионов детей рождаются преждевременно (до полных 37 недель гестации). В Республике Беларусь частота преждевременных родов составляет 4,0 % и тенденции к снижению данного показателя не наблюдается. Неонатальный период является одним из наиболее критических в жизни недоношенного ребенка и именно в это время происходит серьезная адаптация его функциональных систем, прежде всего дыхания и кровообращения, к внеутробной жизни. Биохимическое созревание легких происходит в 3 триместре беременности и характеризуется созреванием сурфактанта, который синтезируется в альвеолоцитах 2-го типа. У недоношенных детей интенсивные реанимационные мероприятия с жесткими параметрами искусственной вентиляции легких, сохраняя жизнь ребенку, влекут за собой развитие серьезного поражения респираторной системы, гипоксическое поражение центральной нервной системы (ЦНС), развитие ретинопатии недоношенных и патологии других органов и систем.

Бронхолегочная дисплазия (БЛД) – полиэтиологическое заболевание, в его основе лежит первичное (респираторный дистресс-синдром (РДС) и/или пневмония) и ятрогенное (искусственная вентиляция легких (ИВЛ) с «жесткими» параметрами: высокие концентрации кислорода, давление) поражение морфо-функционально незрелых легких [1, 2]. При этом заболевании поражаются бронхиолы и паренхима легких, развивается фиброз, эмфизема, нарушается репликация альвеол. Легкие недоношенного ребенка при наличии дыхательной недостаточности подвергаются негативным воздействиям в результате оксидативного стресса и механической вентиляции. Ведущим патогенетическим механизмом развития и прогрессирования патологии легких является воспаление дыхательных путей, которое сопровождается дисбалансом в системах «оксиданты-антиоксиданты» и «протеолиз-антипротеолиз», а также высвобождением различных биомаркеров [2, 3, 4]. Одними из важных факторов, определяющих развитие БЛД, являются повышенная концентрация кислорода во вдыхаемом воздухе и воздействие ИВЛ на незрелую легочную ткань. В результате, избыток активных форм кислорода в сочетании с недостаточностью системы антиоксидантной защиты приводит к развитию оксидативного стресса. При БЛД сохраняется хроническое воспаление на системном и местном уровне (легочная ткань). Токсическое действие высоких концентраций кислорода и длительное воздействие приводит к биохимическим, микроскопическим и грубым анатомическим изменениям в легких. Активные формы кислорода вызывают повреждение ткани легкого как за счет нарушения в различных ферментных системах, инактивации ингибиторов протеаз, угнетения синтеза сурфактанта, инициации перекисного окисления липидов (ПОЛ), так и за счет их прямого и опосредованного действия через продукты ПОЛ на клетки воспаления [3, 4]. При использовании гипероксических смесей кислорода в результате окисления $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора происходит снижение его активности и увеличение активности эластазы – провоспалительного фактора, который обуславливает начало воспалительного процесса и поддерживает его. Дисбаланс активности эластазы и ее ингибиторов в сторону повышения активности протеолиза приводит к деструкции легочной ткани и способствует развитию БЛД [5, 6]. При оксидантном повреждении развивающегося легкого воспалительные реакции сопровождаются протеолизом с повреждением внеклеточного матрикса и редукцией альвеоляризации и ремоделированием легочной паренхимы. Заместительный фиброз, развивающийся в исходе активного коллагенолиза легочной паренхимы у пациентов с БЛД, а также локальные эмфизематозные изменения определяют клинические проявления заболевания [1, 2].

Под действием гипоксии, инфекции и прочих повреждающих факторов, происходит нарушение функционирования эндотелия, который играет важную роль в регуляции вазодилатации и вазоконстрикции, адгезии тромбоцитов, росте гладкомышечных клеток сосудов, что реализуется в развитие патологии со стороны

различных органов и систем, в том числе легочного повреждения. Одним из факторов, приводящих к дисфункции эндотелия, является гомоцистеин, являющийся цитотоксической аминокислотой, содержание которой в плазме крови может варьировать в довольно широких пределах, в то время как в клетке ее концентрация незначительна [7]. Чтобы поддерживать низкий внутриклеточный уровень этого цитотоксического вещества, избыток гомоцистеина связывается с белками, либо при нарушении его метаболизма, выходит в кровеносное русло. Повышение уровня гомоцистеина стимулирует пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов и синтез ими коллагена, вызывает дисфункцию эндотелия и повреждение клеток. Одним из мощных антиоксидантов является глутатион, который выполняет функцию донора водорода и кофактора ряда антиоксидантных ферментных систем [5, 6]. Наиболее доступными факторами снижения уровня гомоцистеина являются витамины В₂, В₆, В₁₂ и фолиевая кислота, однако активно продолжается поиск других медикаментозных средств, способных снижать гипергомоцистеинемию [3, 5, 7].

Цель работы: изучить особенности антенатального анамнеза и течение неонатального периода у детей с БЛД; определить динамику изменений содержания гомоцистеина и глутатиона в сыворотке крови у детей с бронхолегочной дисплазией в неонатальном периоде.

Материалы и методы исследования. Было обследовано 42 недоношенных младенца. Все дети родились на 3-м перинатальном уровне в УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр» и в дальнейшем выхаживались в УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница». На 1–2 сутки жизни, в динамике на 5–7 и на 28-е сутки жизни было проведено определение гомоцистеина и глутатиона в сыворотке крови. В дальнейшем для решения поставленных задач все пациенты разделены на 2 группы: основную группу (1) составили 20 недоношенных детей (12 мальчиков и 8 девочек), с клиническим диагнозом бронхолегочная дисплазия. Согласно критериям оценки степени тяжести легкая степень тяжести встречалась у 5 (25,0 %) детей, средняя степень у 8 (40,0 %) детей и тяжелая – у 7 (35,0 %) детей. Во 2 группу включено 22 недоношенных ребенка (10 мальчиков и 12 девочек), у которых не сформировалась бронхолегочная дисплазия. Критериями исключения в исследовании явились сопутствующие врожденные пороки развития, способные оказать влияние на течение основного заболевания.

Проведен анализ особенностей течения беременности и родов, клиническая характеристика ребенка, общеклинические лабораторные и инструментальные исследования. Количественная и качественная идентификация свободных аминокислот и их дериватов проводилась обращенно-фазной хроматографией с предколоночной дериватизацией 0,4 % о-фталевым альдегидом и 0,3 % 3-меркаптопропионовой кислотой в 0,4М Na-боратном буфере, рН 9,4, а также флуоренилметилкарбомоилхлоридом (FMOC), и детектированием по флуоресценции (231/445 нм для первичных аминокислот и 265/313 нм – для содержащих вторичную аминокислотную группу). Идентификация и количественная оценка полученных значений производилась программой AgilentChemStation B.04.02 путем сравнения результатов анализа исследуемых биологических объектов со стандартной калибровочной кривой искусственной смеси аминокислот. Для статистического анализа данных применяли непараметрические методы с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel и STATISTICA 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Сравнительный анализ частот признаков у разных групп пациентов осуществлялся с помощью точного критерия Фишера. Количественные данные, распределение которых не являлось нормальным, приводились в виде медианы, 25,0 % и 75,0 % квартилей. Для оценки различий количественных признаков между двумя независимыми группами использовался критерий Манна-Уитни. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Анализ антенатальных факторов, воздействовавших на новорожденных детей обследуемых групп, показал, что дети 1 группы родились у женщин, средний возраст которых составил 27 (16; 39) лет, в группе 2 – 25 (19; 37) лет. Количество беременностей в группе детей с БЛД в среднем – 3 (1; 11), родов – 2 (1; 6), в группе сравнения 2 (1; 6) и 1 (1; 6) соответственно. Настоящая беременность у женщин исследуемых групп протекала на фоне соматической и акушерской патологии. В первой группе маловодие встречалось у 20,0 % женщин, во второй – у 18,2 %; инфекционные заболевания матери – у 80,0 % и 59,0 % соответственно; хроническая фетоплацентарная недостаточность – у 65,0 % и 59,0 % матерей; однако достоверной разницы выявлено не было. При анализе гестационного возраста установлено, что в 1-й группе дети родились в сроке 28,2 нед., во второй – в сроке 29,8 нед. Масса тела при рождении составила 890,6 г у младенцев первой группы и 1125,4 г – у детей второй группы.

В неонатальном периоде недоношенные дети исследуемых групп имели различную патологию: неврологические нарушения, гемодинамические проблемы, дисфункцию желудочно-кишечного тракта (срывы энтерального кормления, синдром абдоминальной дистензии, некротический энтероколит), синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром) с геморрагическими проявлениями. Основные нозологические формы, зарегистрированные в неонатальном периоде представлены в таблице 1.

Таблица 1– Патология неонатального периода, абс. (%)

Нозологическая форма	1 группа, n=20	2 группа, n=22	p
Асфиксия при рождении	2 (10,0)	1 (4,5)	0,4634
РДС (БГМ)	12 (60,0)	17 (77,3)	0,1909
Врожденная пневмония	8 (40,0)	5 (22,7)	0,1909
Пневмоторакс	3 (15,0)	0	0,0993
Легочное кровотечение	2 (10,0)	0	0,2207
Внутрижелудочковые кровоизлияния:	10 (50,0)	3 (13,6)	0,0128
1–2 степени	8 (40,0)	3 (13,6)	0,0554
3–4 степени	2 (10,0)	0	0,2207
Судорожный синдром	3 (15,0)	0	0,0993
Гипертензионно-гидроцефальный синдром	2 (10,0)	0	0,2207
ДВС-синдром	4 (20,0)	1 (4,5)	0,1435
Некротический энтероколит оперированный	5 (25,0)	2 (9,1)	0,1672
1 (5,0)	1 (5,0)	0	0,4762
Ретинопатия недоношенных	16 (80,0)	8 (36,4)	0,0050
в т.ч. оперированная	10 (50,0)	4 (18,2)	0,0310

Как следует из таблицы 1, у детей первой группы, у которых сформировалась БЛД, неонатальный период протекал с более тяжелой патологией. В 2 раза чаще регистрировалась врожденная пневмония, осложненная пневмотораксом и легочным кровотечением. Дети основной группы чаще страдали заболеваниями с перинатальным поражением нервной системы (судорожный, гипертензионно-гидроцефальный синдромы). Дети группы сравнения не имели внутрижелудочковых кровоизлияний тяжелой степени, некротического энтероколита, потребовавшего оперативного лечения. Достоверно реже ($p < 0,05$) у детей, не имеющих БЛД, регистрировалась ретинопатия недоношенных, являющаяся проблемой токсического действия кислорода на незрелую сетчатку глаз недоношенного ребенка. Задержка темпов физического развития в первые месяцы внеутробной жизни отмечалась у всех детей 1-й группы и только у 54,5 % детей группы сравнения ($p = 0,0004$). Таким образом, наличие БЛД создает тяжелый фон, усугубляющий постнатальное развитие недоношенного ребенка.

Клиническая картина синдрома дыхательных расстройств развивалась у всех наблюдаемых детей в обеих группах с первых часов жизни в виде прогрессирования дыхательной недостаточности. Сурфактантную терапию получили все дети из 1-й группы, 90,9 % детей второй группы. В связи с развитием тяжелой дыхательной недостаточности новорожденные дети требовали проведения инвазивной ИВЛ. При оценке сроков вентиляции отмечено, что более длительная инвазивная ИВЛ проводилась у детей основной группы, средние сроки составили 21,3 дня, в группе сравнения 6,5 дней. Обращает на себя внимание, что 80,0 % детей, у которых сформировалась БЛД, имели факт повторных реинтубаций по поводу дыхательной недостаточности, в группе сравнения – 22,7 % ($p < 0,05$).

Всем новорожденным детям после рождения проводился кардиомониторинг. Со стороны сердечно-сосудистой системы в обеих группах имели место следующие нарушения: стойкая тахикардия (60,0 % и 18,2 % соответственно в 1 и 2 группах), $p = 0,0063$; гиповолемия, требующая коррекции, чаще была у детей 1-й группы (35,0 %) против 18,2 % младенцев группы сравнения ($p = 0,1878$). По данным эхокардиографии (Эхо-КГ) открытое овальное окно функционировало у 90 % недоношенных детей основной группы и у 68,2 % детей группы сравнения на протяжении всего периода новорожденности ($p = 0,0881$). Открытый артериальный проток диагностировался у 80,0 % детей в 1-й группе и у 63,6 % младенцев 2-й группы ($p = 0,2038$). Таким образом, кардиоваскулярные нарушения регистрировались чаще у детей с БЛД, но без достоверной разницы в группах, за исключением стойкой тахикардии. Первые достоверные рентгенологические признаки БЛД обычно выявлялись на 18–28-е сутки жизни в виде интерстициального фиброза, обогащения легочного рисунка за счет сосудистого компонента на фоне неравномерного вздутия легочных полей. Рентгенологическую диагностику часто затрудняли пневмонические тени, маскирующие перибронхиальные и интерстициальные изменения в легких. При анализе рентгенологических снимков в обследуемых группах отмечено, что у детей с БЛД в 80,0 % случаев имелось наличие интерстициального фиброза, подвздутие легких чаще в латеральных отделах на фоне обогащенного часто деформированного легочного рисунка. В ряде случаев (10 детей) имелись тяжистые, неструктурные корни. Степень выраженности рентгенологической картины зависела от степени тяжести бронхолегочной дисплазии.

По результатам проведенного лабораторного исследования выявлено, что тяжелая анемия, потребовавшая переливания препаратов крови с заместительной целью (эритроцитарная масса), была диагностирована у всех детей 1-й группы и у 81,8 % младенцев второй группы ($p = 0,0654$). Однако гемотрансфузия в первые трое суток потребовалась 16 детям (80,0 %) 1-й группы, и только 4 младенцам (18,2 %) группы сравнения ($p = 0,0001$).

Учитывая научные данные о роли гипергомоцистеинемии в патогенезе механизмов, приводящих к накоплению коллагена и росту гладкомышечных клеток в сосудистой стенке, было определено содержание гомоцистеина в сыворотке крови у недоношенных новорожденных в периоде новорожденности в динамике в 1–2 сутки жизни, на 5–7 и на 28-е сутки жизни. В эти же периоды было исследовано содержание глутатиона в сыворотке крови, как мощнейшего фактора антиоксидантной защиты. Результаты проведенного исследования представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2 – Уровень гомоцистеина (мкмоль/л) у новорожденных в различные возрастные периоды, Ме (25 %; 75 %)

Возраст	1 группа, n=20	2-я группа, n=22
1–2 сутки жизни	2,841 (1,193; 4,344)	3,137 (2,034; 7,064)
5–7 сутки жизни	2,619 (1,112; 4,924)	3,950 (2,194; 5,957)
28 сутки жизни	8,233 (5,969; 21,144)	5,071 (2,598; 7,102)

Таблица 3 – Уровень глутатиона (мкмоль/л) у новорожденных в различные возрастные периоды, Ме (25 %;75 %)

Возраст	1 группа, n=20	2-я группа, n=22
1–2 сутки жизни	3,942 (1,935; 5,576)	2,857 (1,632; 5,347)
5–7 сутки жизни	4,739 (2,442; 8,024)	2,536 (1,761; 7,102)
28 сутки жизни	3,133 (1,972; 6,267)	4,087 (3,108; 6,452)

Данные о нормальной концентрации гомоцистеина в периоде новорожденности весьма противоречивы. В плазме крови взрослого человека содержание гомоцистеина находится в диапазоне 5,0–10,0 мкмоль/л [8]. Р.М. Ueland с соавторами отмечают, что у детей до 12 лет уровень гомоцистеина составляет 4,0–8,0 мкмоль/л (60 % уровня взрослых) [9]. Полученные нами данные свидетельствуют о невысоком, сравнимом в обеих группах уровне гомоцистеина в раннем неонатальном периоде (до 7 суток). К окончанию периода новорожденности и формирования БЛД отмечается значительное увеличение концентрации гомоцистеина в сыворотке крови – в 4 раза от предыдущих исследований. В группе сравнения младенцы, которые также получали интенсивную терапию и длительную дотацию кислорода на фоне морфологически незрелых органов и систем тоже показали рост содержания гомоцистеина к 28 суткам жизни, но не столь значительный – в 2 раза в сравнении с ранним неонатальным периодом.

Что касается уровня глутатиона, являющегося мощным антиоксидантом, то в обеих группах на протяжении всего неонатального периода его содержание оставалось относительно стабильным без достоверных колебаний. Тем не менее, следует отметить, что к концу неонатального периода на фоне значительного роста уровня гомоцистеина как фактора повреждения в группе детей с БЛД, не произошло адекватного повышения уровня глутатиона, представляющего механизмы защиты.

Заключение. В заключении хочется отметить, проведенное нами исследование показало, что недоношенные дети с бронхолегочной дисплазией родились от матерей с отягощенным соматическим и акушерским анамнезом: большинство матерей перенесли инфекционные заболевания во время беременности, более половины имели признаки фетоплацентарной недостаточности.

Неонатальный период протекал с развитием тяжелой перинатальной патологии. Достоверно чаще у младенцев с БЛД развивалась ретинопатия недоношенных, тяжелая анемия, требовавшая гемокоррекции в первые трое суток жизни, для них была характерна задержка темпов физического развития.

Исследование уровня гомоцистеина и глутатиона в сыворотке крови у детей с БЛД, как одних из маркеров оксидантного поражения и антиоксидантной защиты показало, что к моменту формирования специфических для БЛД изменений в легких происходит значительный рост уровня гомоцистеина (в 4 раза) без адекватного увеличения содержания глутатиона.

Литература

1. Овсянников, Д.Ю. Система оказания медицинской помощи детям, страдающим бронхолегочной дисплазией: руководство для практикующих врачей / под ред. Л.Г. Кузьменко. – М.: МДВ, 2010. – С. 15, 19, 49.
2. Avery's diseases of the newborn / [edited by] C.A. Gleason, S.U. Devaskar. – 9th ed. – 2012. – P. 659, 665–666, 670.
3. Соодаева, С.К. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания / С.К. Соодаева // Пульмонология. – 2006. – № 5. – С. 122–125.
4. Состояние эластаза-ингибиторной системы у детей в норме и при отдельных патологических состояниях: монография / Н.С. Парамонова [и др.]; под ред. Н.С. Парамоновой. – Гродно: ГрГМУ, 2017. – 132 с.
5. Губина, Т.Е. Значение протеиназ и их ингибиторов в регуляции гемодинамики новорожденных / Т.Е. Губина [и др.] // Вестник Российского гос. мед. у-та. – 2007. – № 2. – С. 293.
6. Загаштокова, А.Х. Активность эластаза-ингибиторной системы при инфекционной и неинфекционной патологии легких у недоношенных детей с экстремально низкой массой тела /

А.Х. Загаштокова [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2009. – Т. 8, № 6. – С. 58–61.

7. Наумов, А.В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы: монография / А. В. Наумов. – Минск: Профессиональные издания, 2013. – 311 с.

8. Williams, K.T. Homocysteine metabolism and its relation to health and disease / K.T. Williams, K.L. Schalinske // Biofactors. – 2010. – Vol. 36 (1). – P. 19–24.

9. Ueland, P.M. Total homocysteine is making its way into pediatric laboratory diagnostics / P.M. Ueland, A-L. BjorkeMonsen // Eur. J. Clin. Invest. – 2001. – Vol. 31 (11). – P. 928–930.

THE ROLE OF HOMOCYSTEIN IN THE FORMATION OF BRONCHOPULMONARY DYSPLASIA

Paramonova N.S., Sinitsa L.N., Naumov A.V., Doroshenko E.M.

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

Abstract. Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is a pluricausal disease that develops predominantly in premature babies with morphofunctionally immature lungs. At the same time, bronchioles and lung parenchyma are affected, fibrosis, emphysema develops, and alveoli replication is impaired. During the study, the features of antenatal anamnesis of patients with bronchopulmonary dysplasia, as well as during the neonatal period, were analyzed. It was significantly more common for babies with BPD to develop comorbid pathology – retinopathy of prematurity, severe anemia, which required hemocorrection in the first three days of life, delayed physical development. The study of the level of homocysteine and glutathione in the blood serum showed that the formation of specific changes in the lungs is accompanied by a significant increase in homocysteine concentration (4 times) without an adequate increase in the content of glutathione.

Keywords: premature infant, bronchopulmonary dysplasia, homocysteine, glutathione

Поступила 26.07.2019