

На правах рукописи



Кадочникова Полина Андреевна

**ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА У
НEDОНОШЕННЫХ
ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ СТАДИЕЙ РАЗВИТИЯ ЛЕГКИХ**

3.1.21. Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2024 г.

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

Научный руководитель - доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ **Чистякова Гузель Нуровна**

Официальные оппоненты:

Симаходский Анатолий Семенович - доктор медицинских наук, профессор, заслуженный работник здравоохранения Российской Федерации, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой детских болезней с курсом неонатологии

Кравченко Лариса Вахтанговна – доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры пропедевтики детских болезней

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «10» февраля 2025 г. в 12-00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.062.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, д.2).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России (194223, г. Санкт-Петербург, пр. Мориса Тореза, д. 39) и на сайте ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России <http://gptmu.org>

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент

Тыртова Людмила Викторовна

Актуальность темы исследования и степень ее разработки

Ведущей причиной неонатальной заболеваемости и смертности недоношенных новорожденных является морфофункциональная незрелость различных органов и систем: дыхательной, нервной, иммунной, эндокринной и т.д. (Барановская И.Б. 2019, Кондратенко Е.Д. 2024, Thomas J. 2021).

Возможность дыхательной системы обеспечивать адекватный газообмен определяется зрелостью легких у новорожденных детей. Незрелость легочной ткани и дефицит сурфактанта в первые дни жизни приводят к развитию дыхательной недостаточности (Володин Н.Н. 2016).

Формирование легочной ткани плода начинается внутриутробно и продолжается до конца третьего триместра беременности, однако дети, рожденные недоношенными, не достигают функциональной зрелости к моменту рождения (Ahmed B. 2021).

В соответствии с морфологической классификацией различают 5 основных стадий развития легких (эмбриональная, псевдогландулярная, каналикулярная, саккулярная и альвеолярная) (Negretti N.M. 2021, Loering S. 2019, Ogbejesi C. 2023, Higano N.S. 2022). В связи с переходом на новые критерии живорождения, утвержденные Приказом Минздравсоцразвития России от 27.12.2011 №1687н живым считается ребенок, рожденный в сроке гестации 22 недели и более, стадии развития легких которых могут соответствовать как каналикулярной, так и саккулярной стадии. По данным различных авторов, каналикулярная стадия начинается с 16 недели гестации и продолжается до 24-28 недели, характеризуется образованием гемато-паренхиматозного барьера в ткани легкого, развитием сосудистой сети в дыхательных путях, периферическим ветвлением промежуточной мезенхимы, дифференциацией альвеолоцитов 1-го и 2-го типов (Shitny J.C. 2017). Период развития саккулярной стадии протекает с 24-28 до 32-36 недели и характеризуется дифференциацией альвеолоцитов, увеличением поверхности для газообмена и возможности для диффузии газов у новорожденных после рождения, развитием двойного слоя капилляров (Smith, L.J. 2010).

Осложненное течение периода гестации, срок родоразрешения, особенности течения неонатального периода оказывают влияние на развитие легких. Внутриутробная гипоксия обуславливает нарушение иммунной системы плода, приводит к изменению клеточных и гуморальных механизмов с запуском патогенетического «порочного круга», связанного с синтезом и функционированием сурфактанта. Недостаточность продукции сурфактанта у недоношенных новорожденных включает иммунологические механизмы компенсации, характеризующиеся активацией сосудистых факторов и выработки про- и противовоспалительных цитокинов (Голубинская Е.П., 2019).

На сегодняшний день остается актуальным поиск информативных лабораторных и клинических признаков оценки и разработка способа определения степени зрелости легких при рождении. Создание алгоритма дополнительного обследования недоношенных новорожденных позволит

усовершенствовать подходы к диагностике патологических состояний у детей, что и явилось целью нашего исследования.

Цель исследования

Изучить особенности течения неонатального периода у недоношенных детей с различной стадией развития легких для оптимизации тактики ведения и разработки алгоритма дополнительного обследования новорожденных.

Задачи исследования

1. Выявить особенности клинического течения антенонального и неонатального периодов у недоношенных детей с летальным исходом, разработать способ определения степени зрелости легких при рождении на основании рентгенографических и патоморфологических данных.

2. Изучить клиническую характеристику и иммунологические показатели у недоношенных детей с различной стадией развития легких с благоприятным исходом в неонатальном периоде.

3. Установить информативные лабораторные показатели у недоношенных новорожденных для создания компьютерной модели определения различной стадии развития легких.

4. Разработать алгоритм дополнительного обследования недоношенных детей с различной стадией развития легких при рождении для оптимизации тактики ведения новорожденных.

Научная новизна

Впервые разработан способ определения степени зрелости легких с использованием данных рентгенографического исследования и метода компьютерной морфометрии недоношенных детей при рождении.

Получены новые данные об особенностях течения неонатального периода у недоношенных новорожденных с различной стадией развития легких, проявляющиеся при каналикулярной стадии глубокой морффункциональной незрелостью головного мозга, развитием ВЖК, респираторным ацидозом, повышенным уровнем мочевины; при саккулярной – снижением уровня бикарбонатов, гипергликемией, низкими показателями сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитозом.

Определены уровни экспрессии VEGF R1, CD3, SP-B и SP-C в альвеолярной ткани и эпителии бронхов, продукция провоспалительных цитокинов TNF, IGF, FGF, NSE в сыворотке у недоношенных детей с различной стадией развития легких.

Создана компьютерная модель расчета прогностического индекса, позволяющая осуществлять определение степени зрелости легких, разработан алгоритм дополнительного обследования недоношенных новорожденных.

Практическая значимость работы

Расширены представления о течении неонатального периода и изменении уровня цитокинов и факторов роста у детей с каналикулярной и

саккулярной стадиями развития легких. На основании полученных данных создан способ определения зрелости легких недоношенных новорожденных. Создана компьютерная программа на основании данных математической модели определения степени зрелости легких. Разработаны способы прогнозирования бронхолегочной дисплазии и летальности у новорожденных с различной стадией развития легких.

Методология и методы исследования

В работе использована общенаучная методология, базируемая на основах доказательной медицины, системном и комплексном подходе с применением общенаучных и специфических методов, включающих клинико-анамнестические, лабораторные, инструментальные, микробиологические, статистические методы. Протокол исследования одобрен этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 13.09.2022 г. (протокол №10). От всех матерей получено информированное согласие на использование биологического материала в научных целях.

Положения, выносимые на защиту:

1. Течение неонатального периода недоношенных новорожденных связано со степенью зрелости легких. Дети с каналикулярной стадией развития легких характеризуются высокой частотой неврологических и респираторных нарушений при рождении, изменением иммунологических показателей на локальном и системном уровне в сравнении с саккулярной стадией.

2. Исследование уровня Na^+ в анализе кислотно-основного состояния, гематокрита в общем анализе периферической крови в первые часы жизни, TNF- α в пуповинной крови, рентгенологических снимков с использованием программы компьютерной морфометрии в первые сутки жизни позволяет определить степень зрелости легких у недоношенных новорожденных.

3. Определение степени зрелости легких у недоношенных новорожденных и прогнозирование рисков реализации бронхолегочной дисплазии и летального исхода в раннем неонатальном периоде возможно с помощью алгоритма дополнительного обследования новорожденных.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на заседаниях Ученого Совета и проблемной комиссии Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации; VI Научно-практической интернет-конференции молодых ученых с международным участием, 2022, Иваново; международной научно-практической конференции «Инструменты и механизмы устойчивого инновационного развития», 2022,

Таганрог; 39-м конкурсе научно-исследовательских работ Всероссийского общества научных исследователей, 2023, Москва; XVIII Международной (XXVII Всероссийская) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых, 2023, Москва; VII Научно-практической интернет-конференции молодых ученых с международным участием, 2023, Иваново; X общероссийской научно-практической конференции акушеров-гинекологов, неонатологов, анестезиологов-реаниматологов УФО Малышевские чтения: Демографические вызовы современности: курс на репродуктивное здоровье, 2023, Екатеринбург; XI научно-практической конференции акушеров - гинекологов, анестезиологов - реаниматологов и неонатологов УФО Малышевские чтения: Репродуктивное здоровье семьи - сила и безопасность страны, 2024, Екатеринбург.

Внедрение результатов исследования в практику

Разработанный способ определения степени зрелости легких с использованием метода компьютерной морфометрии рентгенологических снимков, способы прогнозирования бронхолегочной дисплазии и летальности у новорожденных с различной стадией развития легких внедрены в практическую работу отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных и образовательный процесс ординаторов по специальности «неонатология» ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ (Екатеринбург).

Личный вклад автора

Медицинские исследования были проведены в соответствии с принципами, которые основаны на доказательной медицине. Обеспечение достоверности результатов исследования, обоснованности выводов и практического применения основано на наличии большого количества наблюдений, использовании современных технологий в области сбора информации, а также применении современной аппаратуры для обработки данных.

Основополагающая идея, план и организация научного исследования, цели и задачи были разработаны в тесном сотрудничестве с научным руководителем д.м.н., профессором Г.Н. Чистяковой.

Автором лично составлена электронная база данных, проанализированы, статистически обработаны и обобщены полученные результаты, сформулированы выводы и практические рекомендации, написан текст диссертации и автореферата.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 5 публикаций в изданиях из перечня ВАК, получен 1 патент РФ и 2 приоритетные справки на изобретения.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырех глав с изложением результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка

использованных сокращений и библиографического указателя, включающего 146 источников, в том числе 84 иностранных. Работа иллюстрирована 35 таблицами и 15 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

Для достижения поставленной цели и решения задач работы выполнена в два этапа.

На первом этапе проведено ретроспективное, когортное исследование 169 обменных карт беременных женщин, историй родов, развития и заболеваний недоношенных детей, протоколов вскрытия умерших детей, рожденных в сроке гестации от 22 до 31,6 недель в период с 2017 по 2022 г. Проведено морфологическое изучение парафиновых срезов ткани легких для определения стадии их развития. На основании данных патоморфологического исследования дети были разделены на две группы в зависимости от стадии развития легких:

1А группа – 59 новорожденных, родившихся в сроке 22-31,6 недель гестации, с каналикулярной стадией развития легких.

2А группа - 59 новорожденных, родившихся в сроке 22-31,6 недель гестации, с саккулярной стадией развития легких.

На основании проведенного исследования разработан способ определения степени зрелости легких с использованием данных рентгенографического исследования при помощи метода компьютерной морфометрии (патент №2819234: заявл. 25.05.2023: опубл. 15.05.2024).

На втором этапе проведено проспективное исследование 51 недоношенного ребенка, родившегося в сроке гестации 22-31 неделя и 6 дней в период с 2021 по 2023 г.

На основании разработанного способа определения степени зрелости легких с использованием данных рентгенографического исследования и метода компьютерной морфометрии дети 2 этапа были разделены на две группы в зависимости от степени зрелости легких:

1Б группа – 22 новорожденных, родившихся в сроке 22-31,6 недель гестации, с каналикулярной стадией развития легких;

2Б группа – 29 новорожденных, родившихся в сроке 22-31,6 недель гестации, с саккулярной стадией развития легких.

Детям исследуемых групп проведено клиническое обследование (использование оценки по шкале Апгар на первой и пятой минутах, анализ антропометрических показателей с учетом гестационного возраста при рождении с использованием графиков роста Фентона, оценка зрелости новорожденных с соотнесением гестационного возраста по шкале Балларда, оценка тяжести дыхательных нарушений по шкале Сильвермана).

Показатели газового гомеостаза, гематологические, биохимические оценивались на 1-е, 5-7-е, 28-30-е сутки.

Рентгенологические, ультразвуковые методы исследования проводились на 1-е, 5-7-е, 28-30-е сутки.

Иммунологические показатели исследовались в пуповинной крови.

Патоморфологические исследования. Аутопсийные препараты легких подвергались комплексному морфологическому и морфометрическому анализу. При проведении иммуногистохимического исследования использовали двухэтапный стрептавидин-биотин-пероксидазный метод с демаскировкой антигена и применением стандартных наборов моноклональных и поликлональных антител фирмы «Bond RTU Primary» США с использованием иммуногистостейнера закрытого типа Bond- max (Leica, Германия). Проявление реакции осуществлялось системой визуализации «Dako Cytomation» (Дания). Для визуализации первичных антител использовали безбиотиновую систему детекции Super Sensitive Polymer-HPR Detection System (Biogenex США). В образцах толщиной 4,0 мкм, помещенных на предметное стекло с адгезивным покрытием определяли их экспрессию. Просмотр микропрепараторов осуществляли на микроскопе Leica DM2500 (Германия) с использованием цифровой фотокамеры Leica DFC295, (Германия).

Оценка плотности легочной ткани по рентгенологическому снимку осуществляется с использованием программы ImageJ (Java-based, США), в которой на рентгенологическом снимке, загруженном в формате JPEG. Определяются участки легочной ткани правого легкого, неперекрывающиеся тенью ребер, средостенья и лопаток, использование функции Measure дает возможность оценить получаемые данные по каждому выделенному участку.

Гематологические исследования проводили на анализаторе «ABX Micros 60-OT18» (Франция), биохимические – с использованием автоматического биохимического анализатора «Sapphire 400» (Япония) и тест-наборов фирмы «Cormey» (Польша), показателей КОС – автоматической системы определения ионного и газового состава крови «RAPIDpoint 500» производства фирмы «Siemens» (Германия).

Методом иммуноферментного анализа определяли уровень провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-8), васкуло-эндотелиального фактора роста (VEGF-A) с помощью тест-систем «ВекторБест» (Россия); содержание нейроспецифической енолазы (NSE), инсулиноподобного фактора роста (IGF), – RayBiotech Inc. – (Китай), фактора роста фибробластов (FGF) – R&D Systems (США). Для детекции результатов исследования использовали анализатор TECAN (Австрия).

Оценку уровня прокальцитонаина в сыворотке крови осуществляли на иммунохимическом анализаторе ECL фирмы Lifotronic (Китай) для диагностики *in vitro* на тест-системах того же производителя.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакетов Microsoft Excel 7.0 для Windows 10 и Statistica 6.0, а также IBM SPSS Statistics 22 на базе ИПЭ УрО РАН (руководитель д.ф.-м.н., главный научный сотрудник лаборатории биостатистики Вараксин А.Н.).

1 этап – ретроспективное исследование

Объект исследования - 169 детей, родившихся в сроке гестации 22-31,6 недель с летальным исходом.
Изучена медицинская документация (история беременности и родов, история развития новорожденного, протоколы вскрытия)

Проведено морфологическое изучение парафиновых срезов для определения стадии развития легких (n=169)

Измерение плотности ткани легкого на цифровых рентгенограммах (n=118)

1А группа (n=59)
Новорожденные с каналикулярной стадией развития легких

2А группа (n=59)
Новорожденные с саккулярной стадией развития легких

На основании результатов измерения плотности легочной ткани разработан способ определения степени зрелости легких с использованием метода компьютерной морфометрии рентгенологических снимков

2 этап – проспективное исследование

Недоношенные новорожденные в сроке гестации 22-31,6 недель (n=51)

1Б группа (n=22)
Новорожденные с каналикулярной стадией развития легких

2Б группа (n=29)
Новорожденные с саккулярной стадией развития легких

Шкала Апгар на первой и пятой минутах жизни, анализ антропометрических показателей с учетом гестационного возраста при рождении с использованием графиков роста Фентона, оценка зрелости новорожденных с соотнесением гестационного возраста по шкале Балларда, оценка тяжести дыхательных нарушений по шкале Сильверман

Факторы роста и цитокины в пуповинной крови

Показатели газового гомеостаза, гематологические, биохимические на 1-е, 5-7-е, 28-30-е сутки

Рентгенологические, ультразвуковые методы исследования на 1-е, 5-7-е, 28-30-е сутки

Выявление информативных параметров определения степени зрелости легких

Создание компьютерной программы определения степени зрелости легких недоношенных

Рисунок 1 – Дизайн исследования.

Критерии включения:

-новорожденные дети в сроке 22-31,6 недель гестации

Критерии невключения:

1. Врожденные пороки развития плода, затрагивающие сердечно-сосудистую и дыхательную системы;

2. Наличие хромосомных аномалий;

3. Наличие у матери вируса иммунодефицита человека.

Критерии исключения:

1. Новорожденные дети, рожденные в сроке гестации 32 недели и более;

2. Синдром задержки роста плода.

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам проведенного исследования, средний возраст женщин, родивших детей 1А и 2А групп составил $33,0 \pm 6,4$ и $32,0 \pm 5,4$ лет ($p > 0,05$). Более половины всех женщин, родивших детей с каналикулярной и саккулярной стадией развития легких были повторнобеременными (74,5% и 69,4% соответственно). Угроза прерывания настоящей беременности преимущественно регистрировалась у матерей детей 1А группы (33,9% и 13,6% соответственно, $p < 0,05$). Истмико-цервикальная недостаточность статистически значимо чаще выявлялась в 1А группе женщин (61% против 33,9% в 2А группы, $p < 0,05$).

Наименьший гестационный возраст (ГВ) и антропометрические показатели имели новорожденные 1А группы (ГВ – $25,0 \pm 1,9$ и $27,0 \pm 2,3$, $p < 0,05$, масса – $640,0 \pm 344,2$ и $760,0 \pm 364,3$ гр., $p < 0,05$, длина тела – $30,0 \pm 4,1$ и $33,0 \pm 5,0$ см., $p < 0,05$) (рисунок 2).

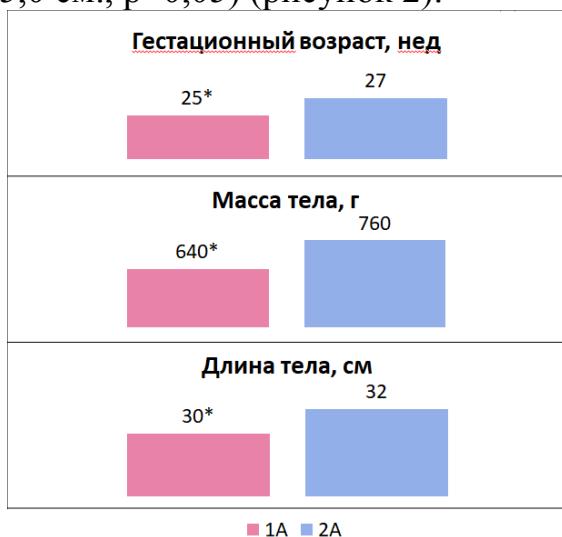


Рисунок 2 – Антропометрические данные новорожденных,
* $p < 0,05$.

При оценке гендерной принадлежности новорожденных выявлено превалирование мужского пола в обеих группах (64,4% в 1А группе, 59,3% во 2А группе). Плазмотрансфузия вследствие дефицита плазменных факторов свертывания проводилась детям с каналикулярной стадией развития легких чаще (83,1% и 67,9% соответственно, $p < 0,05$). Глубокая

моррофункциональная незрелость головного мозга, характеризующаяся слабой выраженностью борозд и извилин, расширении межполушарной щели, увеличенным показателем диастаза кость-мозг, расширенными сосудистыми сплетениями достоверно чаще регистрировалась среди детей 1А группы (79,7% и 42,4% соответственно, $p<0,05$).

У детей с каналикулярной стадией зрелости легких отмечались более низкие показатели парциального давления кислорода, что может быть обусловлено незрелостью легочной паренхимы, недостаточностью субстрата для кислородного обмена и повышенными значениями HCO_3^- ($p<0,05$) (Табл. 1).

Таблица 1 - Показатели кислотно-основного состояния крови у недоношенных новорожденных при рождении, ($M\pm SD$)

Показатели	1А группа (новорожденные с каналикулярной стадией развития легких, $n=59$)	2А группа (новорожденные с саккулярной стадией развития легких, $n=59$)	Уровень статистической значимости (p)
pH	7,276±0,16	7,255±0,16	0,352
pCO ₂	44,7±28,92	42,4±18,71	0,303
pO ₂	44,4±13,87*	49,1±25,82	0,037
K ⁺	6,94±2,18	6,94±2,98	0,129
Na ⁺	134±7,48	134,4±5,98	0,272
Ca ²⁺	1,25±0,12	1,23±0,12	0,154
Cl ⁻	106±12,68	106±4,75	0,376
Glu	3,8±2,92	3,1±4,91	0,448
Lac	4,73±4,40	4,47±4,79	0,227
HCO ₃ ⁻	19,3±4,44*	17,9±5,09	0,023
BE	-7±5,43	-7,7±6,28	0,284

Примечание: * $p<0,05$ между исследуемыми группами

При анализе показателей биохимического исследования крови установлено, что уровень мочевины у детей с каналикулярной стадией развития легких был достоверно выше, чем с саккулярной (рисунок 3).

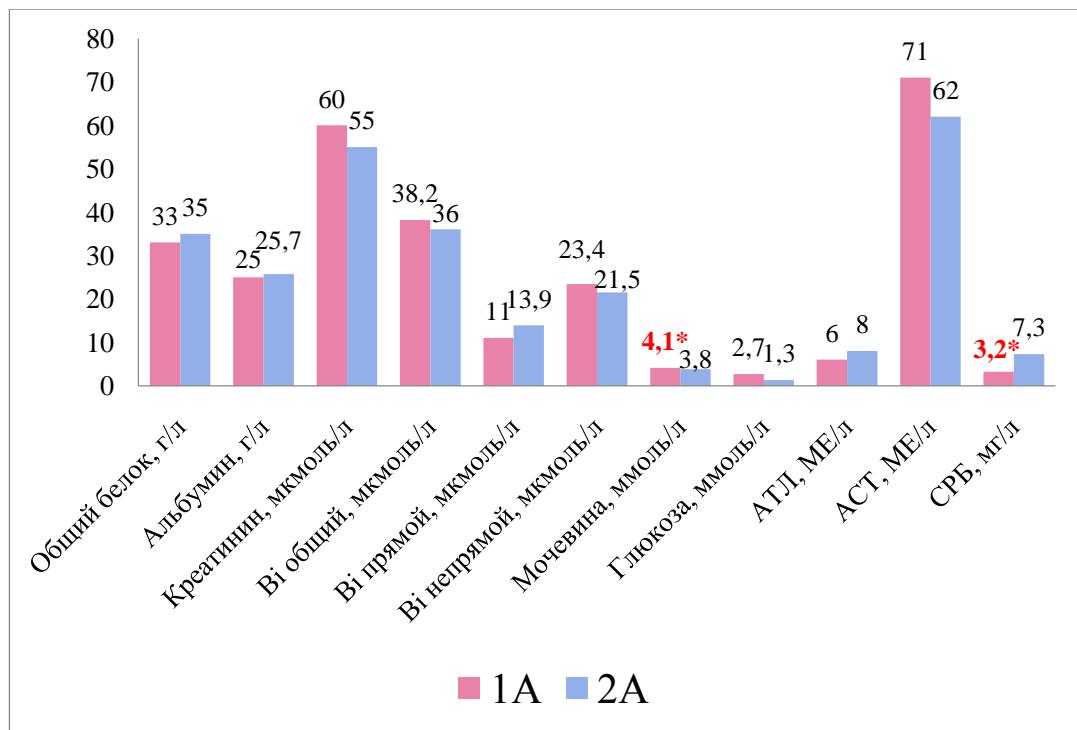


Рисунок 3 – Результаты биохимического исследования крови у недоношенных детей на 1-е сутки жизни, * $p<0,05$.

В 2А группе новорожденных чаще регистрировалась гипогликемия (61% и 44,1% соответственно), что связано с меньшими энергетическими запасами, менее развитыми механизмами глюконеогенеза, перенесенной тяжелой асфиксиией, гипотермией. Гипергликемия наблюдалась преимущественно у детей с каналикулярной стадией развития легких (13,6% и 1,7% соответственно, $p<0,05$), что рассматривается как маркер остро развивающегося критического состояния, зачастую отражающего его тяжесть и инсулиновую резистентность. При гипергликемии нарушается фагоцитарная активность лейкоцитов, функция комплемента и хемотаксис нейтрофилов, возрастает уровень провоспалительных цитокинов, что приводит к повышенной восприимчивости к инфекции (Beardsall K., 2021).

При проведении иммуногистохимического исследования аутопсийного материала выявлено, что у новорожденных с каналикулярной стадией развития легких экспрессия VEGF R1 в эпителии бронхов и альвеолоцитах статистически значимо снижалась относительно детей 2А группы (0 [0;0,5] против 1 [1;2], $p<0,05$), что может свидетельствовать о нарушении процессов васкуляризации у этих детей. Экспрессия рецептора CD3+ была снижена в 1А группе новорожденных (9 [6;13,5] против 12[7;20,5], $p<0,05$), что указывает на недостаточность Т-клеточного иммунитета в легких и обуславливало повышенную восприимчивость к инфекционной патологии.

SP-B – низкомолекулярный гидрофобный белок, синтезируется альвеолоцитами II типа (A2), нереснитчатыми бронхиолярными эпителиальными клетками и клетками Клара (Голубинская Е.П., 2019). При изучении сурфактантного белка SP-B, который синтезируются альвеолоцитами II типа (A2), установлено, что экспрессия SP-B у детей с каналикулярной стадией развития легких составляла $2,5\pm0,5$ баллов, при саккулярной стадии – $3,0\pm0,2$ баллов ($p<0,05$) (рисунок 4,5).

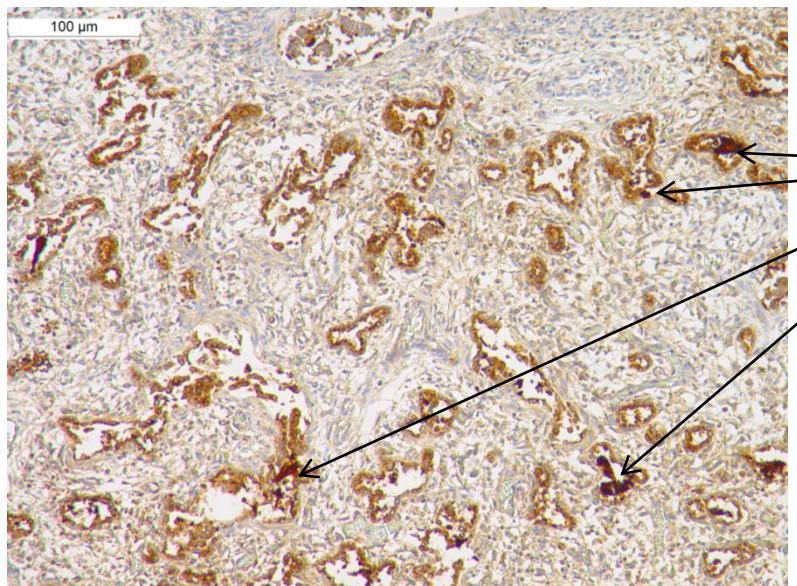


Рисунок 4 – Экспрессия рецепторов SP-B в альвеолоцитах у новорожденных с каналикулярной стадией развития легких. ИГХ×100, фоновое окрашивание ядер гематоксилином.

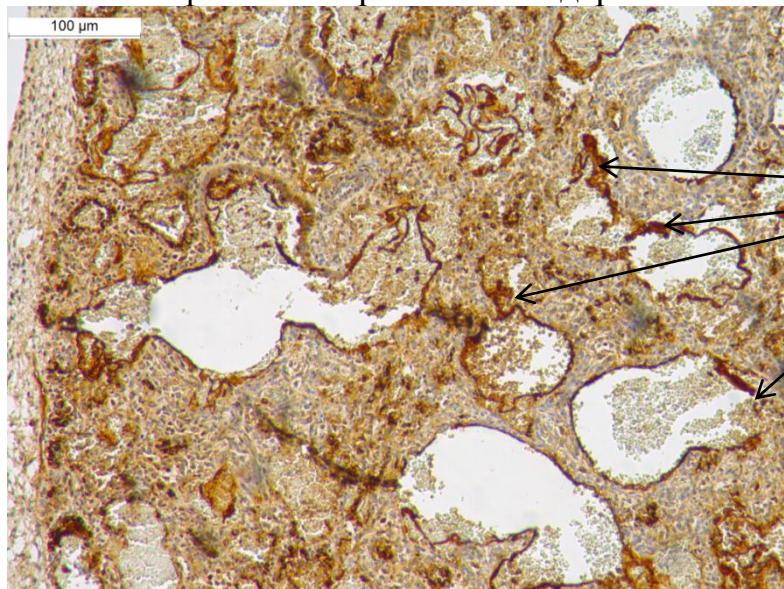
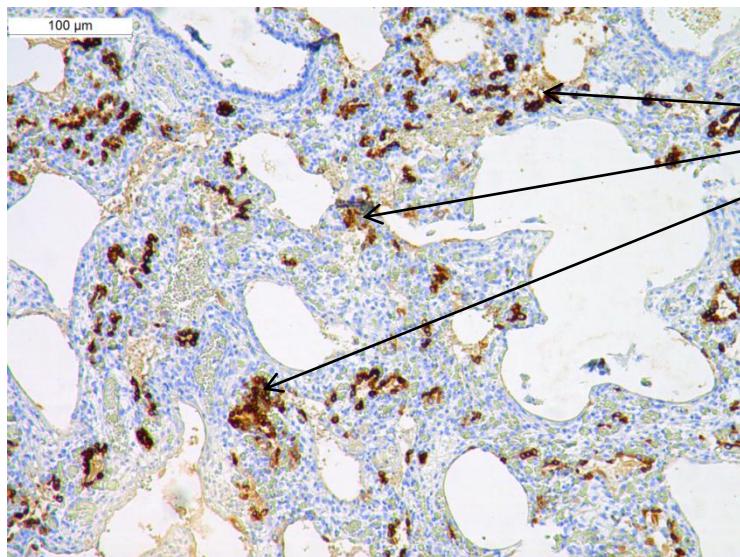


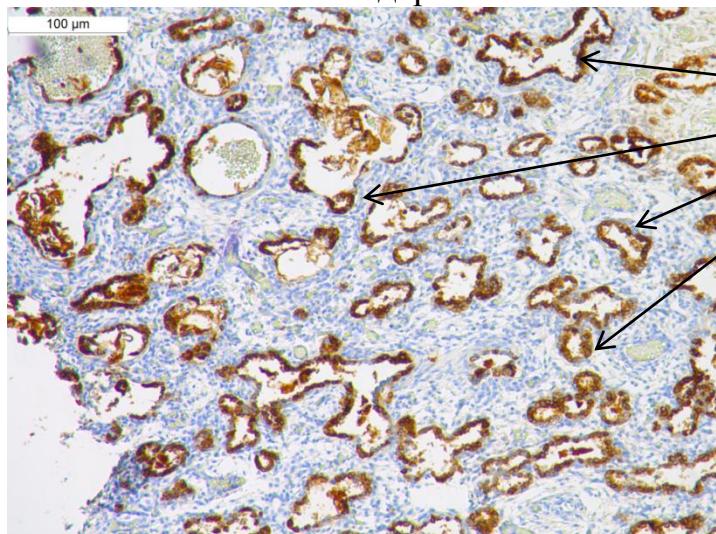
Рисунок 5 – Экспрессия рецепторов SP-B в альвеолоцитах у новорожденных с саккулярной стадией развития легких. ИГХ×200, фоновое окрашивание ядер гематоксилином.

Статистически значимое снижение экспрессии SP-C отмечалось у детей 1A группы ($2,0 \pm 0,5$ против $3,0 \pm 0,3$ баллов в 2A группе, $p < 0,05$) (рисунок 6,7).



Альвеолоциты
2-го порядка с
экспрессией
SP-C

Рисунок 6 – Экспрессия SP-C в альвеолоцитах у новорожденных с каналикулярной стадией развития легких. ИГХ×200, фоновое окрашивание ядер гематоксилином.



Альвеолоциты
2-го порядка с
экспрессией
SP-C

Рисунок 7 – Экспрессия SP-C в альвеолоцитах у новорожденных с саккулярной стадией развития легких. ИГХ×100, фоновое окрашивание ядер гематоксилином.

Диффузная распространенность площади экспрессии сурфактантных белков SP-B составила 91,6% среди детей с каналикулярной стадией и 100% среди новорожденных с саккулярной стадией развития легких. SP-C был диффузно распространен у 25,4% детей 1A группы и 54,2% 2A группы ($p<0,05$) (рисунок 8,9).



Рисунок 8 – Уровень экспрессии сурфактантных белков SP-B и SP-C у детей с каналикулярной стадией, баллы.



Рисунок 9 – Уровень экспрессии сурфактантных белков SP-B и SP-C у детей с саккулярной стадией, баллы.

На 2 этапе было проведено проспективное исследование 51 ребенка, которых разделили на две группы на основании степени зрелости легких, определенной с использованием данных рентгенографического исследований при помощи метода компьютерной морфометрии. Статистически значимо чаще у женщин, родивших детей 1Б группы регистрировалась артериальная гипертензия, существовавшая до беременности (45,5% и 17,2% соответственно, $p<0,05$). Более половины всех женщин, родивших недоношенных детей были повторнобеременными. Подавляющее большинство женщин детей с каналикулярной стадией развития легких были повторнородящими. Статистически значимо чаще у матерей детей с каналикулярной стадией развития легких наблюдалось развитие колыпита в течение настоящей беременности (36,4% и 3,4% соответственно, $p<0,05$).

Гестационный возраст новорожденных не имел статистических отличий, что указывает на то, что дети, с одинаковым сроком рождения, могут иметь различную стадию развития легких ($28,0\pm2,2$ и $29,0\pm1,8$ соответственно, $p>0,05$). При оценке по шкале Баллард определено, что новорожденные с каналикулярной стадией имели более низкие баллы, что является признаком их моррофункциональной незрелости (рисунок 10).



Рисунок 10 – Оценка по шкале Баллард, баллы.

* $p < 0,05$ между исследованными группами

Длительность ИВЛ и СРАР у новорожденных не имела достоверных отличий, однако использование высокопоточных назальных канюль, в качестве респираторной поддержки, было длительнее у детей 1Б группы ($15,0 \pm 17,2$ и $1,5 \pm 5,1$ дней соответственно, $p < 0,05$).

По данным нейросонографии в первые сутки жизни внутрижелудочковое кровоизлияние 2 степени регистрировалось достоверно чаще у новорожденных 1Б группы (72,7% и 10,3% соответственно, $p < 0,05$). Значительно чаще врожденная пневмония наблюдалась у детей с каналикулярной стадией развития легких (72,7% и 41,3% соответственно, $p < 0,05$).

При исследовании показателей кислотно-основного состояния крови установлено, что парциальное давление кислорода у детей 1Б группы было статистически значимо ниже (Табл.2).

Таблица 2 - Показатели кислотно-основного состояния крови у недоношенных новорожденных при рождении, ($M \pm SD$)

Показатели	1Б группа (новорожденные с каналикулярной стадией развития легких, n=22)	2Б группа (новорожденные с саккулярной стадией развития легких, n=29)	Уровень статистической значимости (p)
pH	$7,314 \pm 0,10$	$7,34 \pm 0,10$	0,086
pCO ₂	$39,1 \pm 12,51$	$40,0 \pm 12,41$	0,356
pO ₂	$40,8 \pm 9,77^*$	$46,2 \pm 15,80$	0,013
K ⁺	$6,4 \pm 0,92$	$6,3 \pm 1,98$	0,093
Na ⁺	$135,6 \pm 2,12^*$	$134 \pm 3,64$	0,0008
Ca ²⁺	$1,24 \pm 0,08$	$1,24 \pm 0,08$	0,052
Cl ⁻	$109,5 \pm 3,99$	$106 \pm 18,4$	0,107
Glu	$1,6 \pm 1,36^*$	$2,6 \pm 1,18$	0,027
Lac	$3,8 \pm 3,27$	$3,7 \pm 2,06$	0,343
HCO ₃ ⁻	$19,4 \pm 2,85^*$	$21 \pm 2,99$	0,036
BE	$-6,6 \pm 3,45^*$	$-5 \pm 3,67$	0,047

У детей с каналикулярной стадией развития легких отмечались более низкие показатели бикарбонатов, оснований и глюкозы. Регистрировалось повышенное содержание Na⁺ у детей с каналикулярной стадией развития легких.

Новорожденные 1Б группы длительнее пребывали на лечении в стационаре и выписывались на $70,0 \pm 27,6$ сутки жизни, дети 2Б группы на $51,5 \pm 20,6$ сутки ($p < 0,05$).

При проведении иммунологических исследований выявлены достоверные различия в показателях цитокинов и факторов роста у новорожденных с каналикулярной и саккулярной стадией развития легких (рисунок 11).

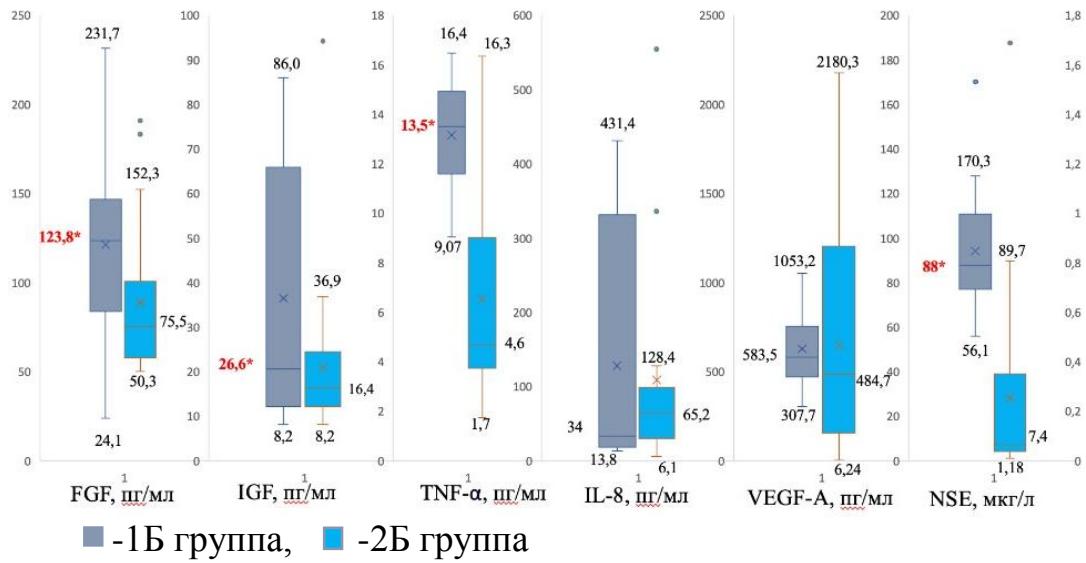


Рисунок 11 – Экспрессия цитокинов и факторов роста в пуповинной крови.

У новорожденных 1Б группы регистрировалось повышенное содержание ростовых факторов (FGF и IGF) ($p < 0,05$), и концентрации TNF- α ($p < 0,05$), что связано с наиболее активным ростом и ветвлением структур легких, в конце псевдоглануллярной стадии. Повышение уровня NSE у детей с каналикулярной стадией развития легких ($p < 0,05$) обусловлено наличием внутрижелудочных кровоизлияний 2 степени (72,7%). Новорожденные с каналикулярной стадией развития легких имели статистически более высокие показатели прокальцитонина (ПКТ), чем с саккулярной (0,118 [0,074;0,141] и 0,089 [0,065;0,106] соответственно, $p < 0,05$).

При проведении корреляционного анализа обнаружены статистически значимые взаимосвязи цитокинов и факторов роста с развитием врожденной пневмонии, бронхолегочной дисплазии, субкортикалной ишемии, общей длительностью респираторной поддержки (рисунок 12).

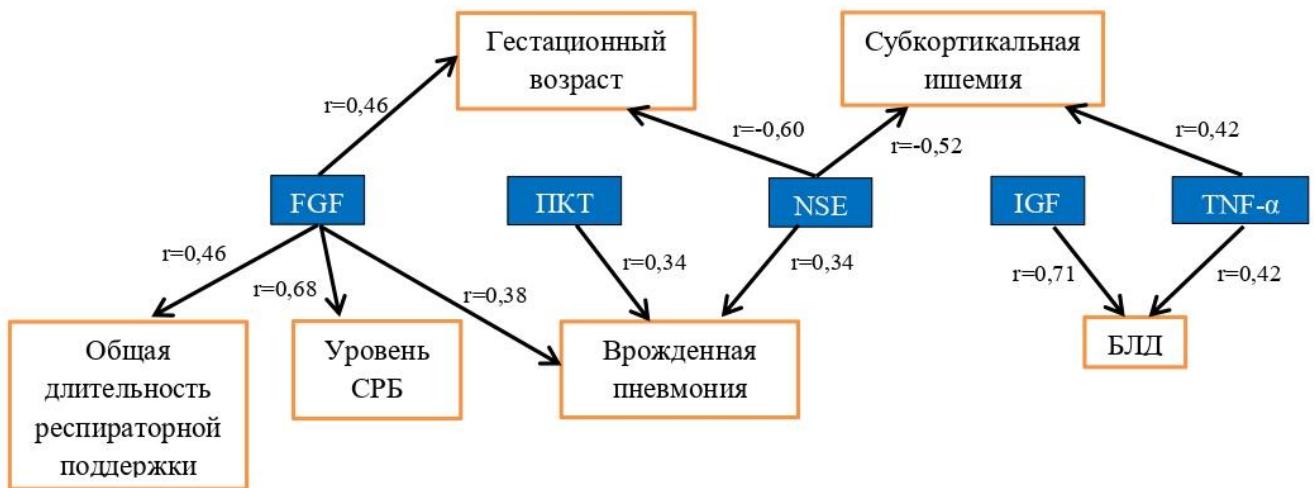


Рисунок 12 – Корреляционные взаимосвязи между медиаторами межклеточного взаимодействия и клиническими показателями, $p < 0,05$ во всех случаях.

Морфофункциональная незрелость легких является одной из основных причин неонатальной заболеваемости и смертности недоношенных новорожденных. Для определения степени зрелости легких была создана математическая модель, которая включает в себя концентрацию ионов Na^+ в газах крови, показатель гематокрита в анализе крови в первый час жизни новорожденного, уровень экспрессии цитокина TNF (в пг/мл) в пуповинной крови и значения плотности легочной ткани в латеральной точке 6-го межреберья, измеренного с использованием программы ImageJ с последующим определением прогностического индекса (PI) по формуле:

$$\text{PI} = -6,9975 + 0,04388 \times X_1 - 0,005751 \times X_2 + 0,005388 \times X_3 + 0,04879 \times X_4,$$

где:

X_1 - уровень Na^+ в газах крови в первый час жизни новорожденного

X_2 – уровень гематокрита в анализе крови новорождённого, взятом в первый час жизни

X_3 – уровень max плотности в латеральной точке 6-го межреберья

X_4 - уровень экспрессии цитокина TNF в пуповинной крови (в пг/мл)

-6,9975 – Const

при PI более 0 прогнозируют каналикулярную стадию развития легких, а при PI менее 0 делают заключение о саккулярной стадии.

Создание компьютерной модели, ускорило вычисление результата по формуле прогноза.

На основании внесения данных переменных в программу проводится вычисление степени зрелости легких (рисунок 13).

Уровень цитокина TNF в (пг/мл): 14.78	Уровень цитокина TNF в (пг/мл): 11.6
Уровень Na^+ в газах крови в первый час жизни: 135.8	Уровень Na^+ в газах крови в первый час жизни: 128
Уровень гематокрита в первом анализе крови: 50	Уровень гематокрита в первом анализе крови: 45.2
MAX Показатель плотности легочной ткани в латеральной точке шестого межреберья: 183	MAX Показатель плотности легочной ткани в латеральной точке шестого межреберья: 130
Каналикулярная стадия	Саккулярная стадия
Расчет	Расчет

Рисунок 13 - Определение степени зрелости по математической модели (каналикулярная и саккулярная стадии развития легких).

На основании проведенного исследования был разработан способ прогноза бронхолегочной дисплазии и летальности у детей с каналикулярной или саккулярной стадией развития легких, на основе комплексной оценки данных анамнеза, физикального, рентгенографического, ультразвукового и лабораторного исследования с использованием метода математического моделирования с последующим вычислением прогностического индекса (PI).

В процессе исследования выявлены информативные показатели для определения степени зрелости легких недоношенных новорожденных, что позволяет рекомендовать их использование в дополнение к стандартным протоколам обследования новорожденных для определения дальнейшей тактики лечения (рисунок 14).

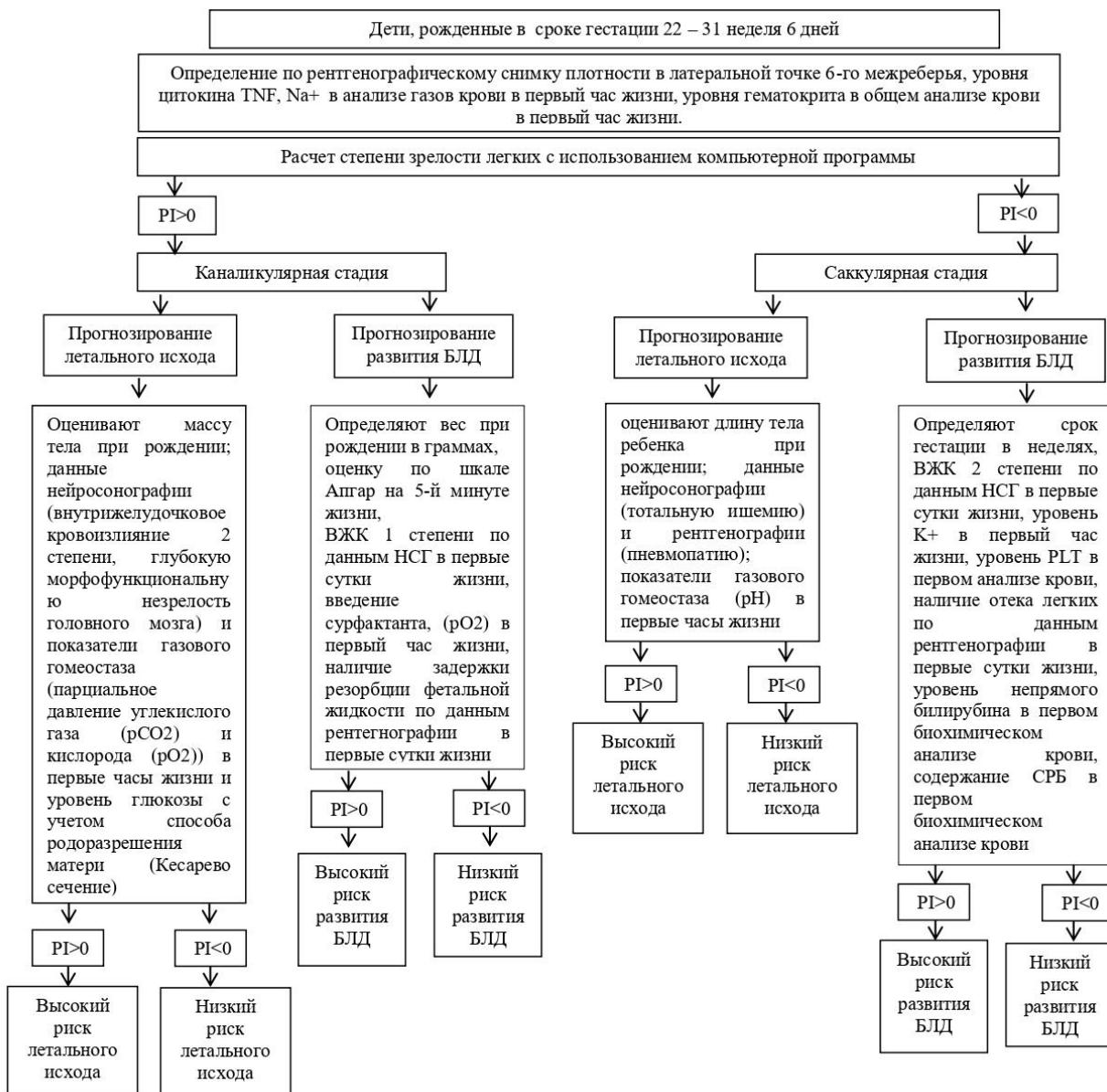


Рисунок 14 - Алгоритм дополнительного обследования недоношенных новорожденных.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что дети с каналикулярной стадией развития легких с летальным исходом характеризуются высокой частотой встречаемости респираторного ацидоза (18,6%), повышенным уровнем мочевины, гипергликемией (13,5%), снижением экспрессии рецепторов VEGF-R1, CD3, сурфактантных белков SP-B и SP-C в ткани легкого, развитием глубокой морфофункциональной незрелости головного мозга при рождении (79,6%), дети с саккулярной стадией – снижением уровня бикарбонатов, развитием гипогликемии (61%). Разработан способ определения степени зрелости легких с использованием метода компьютерной морфометрии на основании рентгенологических и патоморфологических исследований у недоношенных новорожденных.

2. Доказано, что тяжесть течения неонатального периода у новорожденных с каналикулярной стадией развития легких при рождении обусловлена развитием внутрижелудочных кровоизлияний 2 степени (77,2%), высокой частотой инфекционной патологии (72,7%), длительным курсом антибактериальной терапии (35 суток) продолжительной респираторной поддержкой (67 суток у детей с каналикулярной стадией развития легких, 47 суток у новорожденных с саккулярной стадией), повышенной продукцией FGF, IGF, TNF- α , NSE и прокальцитонина; у детей с саккулярной стадией – низкими показателями сегментоядерных нейтрофилов и высокими – лимфоцитов, меньшей частотой встречаемости врожденной пневмонии (41,3%), высокими показателями натрия в крови.

3. Выявлено, что информативными показателями для определения стадии развития легких при рождении у недоношенных новорожденных являются: уровень ионов Na^+ в анализе кислотно-основного состояния, гематокрит в общем анализе периферической крови, TNF- α в пуповинной крови.

4. Предложен алгоритм обследования недоношенных детей с различной степенью зрелости легких, что позволяет прогнозировать летальность и частоту развития бронхолегочной дисплазии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для определения степени зрелости легочной ткани новорожденным 22-31,6 недель гестационного возраста рекомендуется исследование концентрации ионов Na^+ в анализе кислотно-основного состояния, гематокрита в общем анализе периферической крови, TNF- α в пуповинной крови с последующим вычислением прогностического индекса (PI) с использованием компьютерной программы.

2. При прогнозировании летальности у новорожденных с каналикулярной стадией развития легких необходимо проводить определение массы тела при рождении, учитывать способ родоразрешения, данные нейросонографии (ВЖК 2 степени, глубокая морфо-функциональная незрелость головного мозга) в первые сутки жизни, исследовать показатели pCO_2 , pO_2 и глюкозы в первый час жизни с последующим вычислением прогностического индекса; с саккулярной стадией развития легких рекомендуем определять длину тела при рождении, использовать данные нейросонографии (тотальная ишемия), рентгенографии (пневмопатия) в первые сутки жизни, определять показатели pH крови в первый час жизни новорожденного с последующим вычислением прогностического индекса.

3. Для прогнозирования бронхолегочной дисплазии у недоношенных новорожденных с каналикулярной стадией развития легких необходимо проводить определение массы тела при рождении, оценки по шкале Апгар на 5-й минуте жизни, использовать данные нейросонографии (наличие ВЖК 2 степени), рентгенографии (задержка резорбции фетальной жидкости) в первые сутки жизни, оценивать факт введения препарата сурфактанта в первые сутки жизни, исследовать показатели pO_2 в первый час жизни с последующим вычислением прогностического индекса; с

саккулярной стадией развития – проводить оценку гестационного возраста при рождении, использовать данные нейросонографии (ВЖК 2 степени), рентгенографии (отек легких) в первые сутки жизни, исследовать показатели К+, PLT, непрямого билирубина, СРБ в первые часы жизни с последующим вычислением прогностического индекса.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и индексируемых в международной базе данных Scopus, PubMed:

1. Чистякова Г.Н. Актуальные проблемы определения степени зрелости и развития легких у недоношенных детей / Чистякова Г.Н., Кадочникова П.А., Устянцева Л.С., Гришкина А.А. // **Международный журнал медицины и психологии.** – 2021. – № 6. – С 92-102. ИФ – 0,473.
2. Рюмин В.Е. Особенности функциональной активности сосудистого эндотелия у недоношенных новорожденных с респираторными нарушениями / Рюмин В.Е., Чистякова Г.Н., Кинжалова С.В, Ремизова И.И., Кадочникова П.А. // **Лечение и профилактика** – 2022. – №4. – С. 13-17. ИФ – 0,291.
3. Кадочникова П.А. Пренатальные факторы риска формирования нарушений роста и развития легких новорожденного // Кадочникова П.А., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Гришкина А.А., Абакарова Д.А. // **Мать и дитя в Кузбассе.** – 2023. – № 3. – С. 10-16. ИФ – 0,478.
4. Кадочникова П.А. Оценка течения неонатального периода у недоношенных новорожденных с различной стадией развития легких / Кадочникова П.А., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Гришкина А.А., Бычкова С.В., Абакарова Д.А., Устюжанин А.В. // **Современные проблемы науки и образования.** – 2023. – № 3. ИФ – 1,006.
5. Чистякова Г. Факторы риска и структура заболеваемости недоношенных новорожденных с летальным исходом / Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Кадочникова П.А., Абакарова Д.А., Гришкина А.А. // **Мать и дитя в Кузбассе.** – 2024. – Т.97. – № 2. – С.79-87. ИФ – 0,478.

Статьи в сборниках и тезисы

1. Кадочникова П.А., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Абакарова Д.А. Уровни эндотелиального фактора роста и интерлейкина-8 у недоношенных новорожденных с респираторным дистресс синдромом // Сб. статей международной научно-практической конференции «Инструменты и механизмы устойчивого инновационного развития» (Таганрог, 25 января 2022 г). – Уфа: Аэтерна, 2022. – С.150-153.
2. Кадочникова П.А. Анализ причин ранней и поздней неонатальной смертности недоношенных детей различного гестационного возраста в перинатальном центре / Кадочникова П.А., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Гришкина А.А. // Материалы XII съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Москва, 26–28 октября 2022 года). – 2022. – С. 241-242.

3. Кадочникова П.А. Анализ причин перинатальной смертности детей различного гестационного возраста в перинатальном центре / Кадочникова П.А., Чистякова Г.Н., Гришкина А.А., Ремизова И.И. // Сборник трудов Юбилейной конференции посвященной 145-ю ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России (Екатеринбург, 8-9 апреля 2022г.). – С. 9-10.

4. Абакарова Д.А. Оценка критических состояний в неонатологии: обзор литературы / Абакарова Д.А., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Кадочникова П.А., Маханёк А.А. // В книге: Тезисы XVI Общероссийского семинара «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» и IX Общероссийской конференции «FLORES VITAE. Контраверсии неонатальной медицины и педиатрии». Москва, 2022, С.88.

5. Рюмин В.Е. Оценка содержания васкуло-эндотелиального фактора роста и матриксной металло-протеиназы-9 у недоношенных детей, сформировавших бронхо-легочную дисплазию / Рюмин В.Е., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Кадочникова П.А., Абакарова Д.А // XVII Международный конгресс по репродуктивной медицине (Москва, 17–20 января 2023 г) – С.187-188

6. Кадочникова П.А. Изменение уровней фактора роста эндотелия сосудов и интерлейкина-8 у недоношенных новорожденных с респираторным дистресс-синдромом / Кадочникова П.А., Чистякова Г.Н. // XVIII Международная (XXVII Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых (МОСКВА, 16 марта 2023 г.) Сборник тезисов / РНИМУ им. Н.И. Пирогова; Студенческое научное общество РНИМУ им. Н.И. Пирогова. — Москва: РНИМУ им. Н.И. Пирогова, 2023. – С.112.

Патенты

1. Патент №2819234. Способ определения степени зрелости легких с использованием данных рентгенографического исследования при помощи метода компьютерной морфометрии: №2023113588: заявл. 25.05.2023: опубл. 15.05.2024 / П.А. Кадочникова, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, А.А. Гришкина, М.Н. Зырянов, С.В. Бычкова, Г.Х. Ягубова; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

2. Приоритетная справка №2024116994 на изобретение. Способ прогнозирования летальности у недоношенных новорожденных с различной стадией развития легких. Кадочникова П.А., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Гришкина А.А. (положительное решение на выдачу патента на изобретение от 27.09.2024).

3. Приоритетная справка № 2024122311 на изобретение. Способ прогнозирования бронхолегочной дисплазии у недоношенных новорожденных с различной стадией развития легких. Кадочникова П.А., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Гришкина А.А.