

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ИВАНОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
МАТЕРИНСТВА И ДЕТСТВА ИМЕНИ В.Н. ГОРОДКОВА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

ШИЛОВА Наталия Александровна

ВРОЖДЕННАЯ ПНЕВМОНИЯ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ  
НОВОРОЖДЕННЫХ: МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ, ДИАГНОСТИКА,  
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИСХОДОВ

3.1.21. – Педиатрия

Диссертация  
на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Научный консультант:  
доктор медицинских наук, профессор  
ЧАША Татьяна Валентиновна

Иваново – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1 Частота, этиология, патогенез, клинические особенности, диагностика врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных .....	16
1.2 Понятие пневмопротеинов. Особенности содержания пневмопротеинов у глубоко недоношенных детей .....	33
1.3 Антимикробные пептиды (кателицидин LL37) и их роль в противоинфекционной защите организма .....	42
1.4 Роль фосфолипазы в развитии воспалительного ответа.....	49
1.5 Роль наследственного вклада в развитии дыхательных нарушений у глубоко недоношенных детей. Гены II фазы системы детоксикации и главного комплекса гистосовместимости.....	52
1.6 Катамнестическое наблюдение за детьми, родившимися глубоко недоношенными.....	67
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	72
2.1 Организация и объем исследований.....	72
2.2 Клинические методы исследования.....	73
2.3 Лабораторные методы исследования .....	75
2.4 Молекулярно-генетическое обследование.....	77
2.5 Морфологическое исследование.....	78
2.6 Статистические методы исследования .....	79
ГЛАВА 3 КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ, РОДИВШИХСЯ ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫМИ.....	81
3.1 Особенности заболеваемости, течения беременности и родов у матерей обследованных детей.....	81
3.2 Особенности патоморфологического исследования последов.....	87
3.3 Клиническая характеристика обследованных новорожденных.....	92

3.4 Результаты катamnестического наблюдения, комплексная оценка состояния здоровья и исходы перинатальной патологии у детей в возрасте трех лет, родившихся глубоко недоношенными.....	117
ГЛАВА 4 ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПНЕВМОПРОТЕИНОВ В РАЗВИТИИ ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИИ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ .....	132
4.1 Диагностическое и прогностическое значение содержания сурфактантного протеина D в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и сыворотке крови .....	132
4.2 Диагностическое и прогностическое значение содержания белка клеток Клара в сыворотке крови и бронхоальвеолярной лаважной жидкости...	141
ГЛАВА 5 ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КАТЕЛИЦИДИНА LL 37 И СЕКРЕТОРНОЙ ФОСФОЛИПАЗЫ A 2 В РАЗВИТИИ ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИИ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ.....	147
ГЛАВА 6 ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ СИСТЕМЫ ДЕТОКСИКАЦИИ И ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ.....	158
ГЛАВА 7 МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИИ И ЕЕ ИСХОДОВ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ И ОРГАНИЗАЦИЯ МЕДИЦИНСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ДЕТЬМИ С ЭТОЙ ПАТОЛОГИЕЙ.....	167
ЗАКЛЮЧЕНИЕ (ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ).....	175
ВЫВОДЫ.....	211
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	214
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	216
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	218

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Врожденная пневмония до настоящего времени является актуальной проблемой неонатологии, привлекая пристальное внимание разных специалистов (неонатологов, анестезиологов-реаниматологов, пульмонологов и др.). Частота данной патологии варьирует и зависит от гестационного возраста: диагностируется приблизительно у 1% доношенных и 10% - недоношенных новорожденных, а также, является причиной летальных исходов в 10-38% случаев [22, 31, 110, 296].

Особенно актуальна врожденная пневмония у глубоко недоношенных детей, поскольку развитие этой патологии происходит в условиях выраженной морфофункциональной незрелости бронхолегочной системы и дефицита сурфактанта. При этом заболевание, зачастую, протекает тяжело, требует более длительной инвазивной респираторной терапии с высокими концентрациями кислорода, и, следовательно, увеличивает риск развития бронхолегочной дисплазии (БЛД) и других осложнений, приводящих нередко к инвалидности и нарушению качества жизни, сопровождающееся высоким риском летальности не только в неонатальном периоде, но и после выписки из стационара [56, 72, 340].

Учитывая, что врожденная пневмония у глубоко недоношенных новорожденных не имеет специфических симптомов, выявляемых при клинико-лабораторных и инструментальных исследованиях, сопровождается тяжелой патологией других органов и систем, необходим поиск новых методов прогнозирования, диагностики и дифференциальной диагностики данного заболевания и его исходов.

Многие факторы врожденного иммунитета влияют на развитие врожденной пневмонии, ее течение и исходы. Показана причастность большого количества маркеров как клеточного, так и гуморального иммунитета в развитии данного заболевания [45, 78, 163, 259].

Актуальным направлением также является научный поиск молекулярно-генетических маркеров, определяющих развитие врожденной пневмонии и ее исходов у новорожденных детей [28, 280]. Популяционные исследования недоношенных детей с инфекционной патологией легких как на клеточно-молекулярном уровне, так и на уровне генома могут явиться ключом для решения проблемы лечения и диагностики врожденной пневмонии, а также профилактики ее неблагоприятных исходов.

У преждевременно родившихся детей в связи с морфофункциональной незрелостью всех органов и систем, их поражением в перинатальном периоде, имеется повышенный риск формирования инвалидности, что требует длительного наблюдения [111, 115, 303]. Наличие инфекционной патологии при рождении может усугублять имеющиеся проблемы и влиять на исходы заболеваний. Поэтому с целью оптимизации оказания медицинской помощи важно длительное и тщательное наблюдение за этой категорией пациентов [52, 64, 361].

Все вышеизложенное определяет актуальность темы, включающей изучение особенностей факторов врожденного иммунитета, молекулярно-генетических предикторов развития врожденной пневмонии и ее исходов у глубоко недоношенных детей, а также комплексную оценку состояния здоровья в возрасте 3-х лет этой категории пациентов для усовершенствования системы наблюдения за детьми с врожденной пневмонией.

### **СТЕПЕНЬ РАЗРАБОТАННОСТИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Результаты исследования патогенеза врожденной пневмонии у новорожденных отражены и в Российской, и в иностранной научной литературе. [72, 78, 243, 321].

Предметом специального изучения является вклад различных биохимических маркеров в развитии дыхательных нарушений у глубоко недоношенных новорожденных. Выявлено участие сурфактантного протеина D (SP-D) в развитии РДС, инфекций и БЛД у недоношенных детей. Однако результаты исследований оказались противоречивыми [164, 338, 351].

Неоднозначными оказались результаты исследований и при изучении ассоциаций различных уровней белка клеток Клара с РДС, БЛД и инфекцией у недоношенных новорожденных [186, 190, 212].

Выявлена роль неспецифических факторов гуморального иммунитета (кателицина LL 37 и секреторной фосфолипазы A2) в развитии дыхательных нарушений у новорожденных. Предположено, что антимикробный пептид кателицин LL 37 активируется в ответ на инфекцию и воспаление и представляет собой эффекторную молекулу системы защиты не только бронхолегочной системы, но и других органов и систем [96, 331].

Учитывая, что подтип ПА является основной изоформой фосфолипазы в легких недоношенных младенцев, интересна ее роль в патогенезе дыхательных нарушений у этой категории новорожденных. В доступной литературе найдено всего 2 исследования, посвященных изучению этого фермента [205, 356].

На сегодняшний день известна роль наследственных факторов (полиморфизмов генов системы детоксикации (глутатион-S-трансфераз) и HLA II класса) в развитии дыхательных нарушений (врожденной пневмонии, РДС) и их исходов у новорожденных. Одно из самых частых осложнений в исходе дыхательных нарушений у глубоко недоношенных новорожденных – формирование БЛД. Большое количество исследований посвящено генетической предрасположенности формирования бронхолегочной дисплазии [11]. Выявлены, в том числе, полиморфизмы генов системы детоксикации и HLA II класса причастные к развитию БЛД. Установлены как ассоциации аллелей генов системы детоксикации и HLA II класса с развитием БЛД у новорожденных, так и протективные гены и аллели [80, 232, 327]. Однако в литературе отсутствует информация об ассоциации генов HLA II класса (а именно локусов *DRB1*, *DQA1*, *DQB1*) и генов детоксикации с развитием врожденной пневмонии и ее исходов.

Поиск новых факторов патогенеза развития врожденной пневмонии, риска формирования ее неблагоприятных исходов (формирование БЛД, инвалидности, летальный исход) определяют актуальность проблемы.

Выявление новых клинических, биохимических, молекулярно-генетических факторов риска развития врожденной пневмонии у глубоко недоношенных детей будет способствовать оптимизации лечебно-диагностического процесса и снижению частоты неблагоприятных исходов врожденной пневмонии.

Существующая система катamnестического наблюдения глубоко недоношенных детей позволяет своевременно корректировать выявленные нарушения здоровья. Однако, в подавляющем большинстве исследований внимание уделяется нервно-психическому развитию, а также физическому развитию и исходам перенесенной специфической перинатальной патологии (БЛД, ретинопатия недоношенных, нарушения слуха) [59, 114, 300, 332]. В доступной литературе отсутствуют сведения о комплексной оценке состояния здоровья детей в отдаленные периоды, родившихся глубоко недоношенными, которая учитывает не только нервно-психическое и физическое развитие, но и уровень функционального состояния основных систем организма, наличие или отсутствие функциональных нарушений и/или хронических заболеваний (состояний) с учетом клинического варианта и фазы течения патологического процесса, степень сопротивляемости организма неблагоприятным внешним воздействиям с определением, по итогам обследования, группы здоровья.

Таким образом, исследование, включающее определение биохимических и генетических маркеров развития и исходов врожденной пневмонии, а также ее влияние на состояние здоровья глубоко недоношенных детей к 3-летнему возрасту, является актуальным.

## **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Установить новые патогенетические механизмы развития врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных и разработать алгоритм диагностики врожденной пневмонии и прогнозирования исходов перинатальной патологии у данной категории детей для улучшения их состояния здоровья в раннем возрасте.

## **ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ**

1. Дать клиническую характеристику глубоко недоношенных детей с врожденной пневмонией в неонатальном периоде и до выписки из стационара, провести анализ акушерско-гинекологического и соматического анамнеза их матерей и патоморфологического исследования плацент.
2. Провести комплексную оценку состояния здоровья глубоко недоношенных детей, перенесших врожденную пневмонию, в возрасте трех лет.
3. Определить концентрацию пневмопротеинов (сурфактантного протеина D и белка клеток Клара) в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и сыворотке крови; кателицидина LL 37 и секреторной фосфолипазы A2 в фарингеальном аспирате и сыворотке крови и определить их значение в формировании врожденной пневмонии, диагностики и прогнозировании ее исходов.
4. Выявить молекулярно-генетические факторы риска развития врожденной пневмонии и неблагоприятных исходов перинатальной патологии у глубоко недоношенных новорожденных.
5. Разработать автоматизированную программу прогнозирования неблагоприятного исхода перинатальной патологии у глубоко недоношенных детей с массой тела при рождении менее 1500г.
6. Разработать алгоритм диагностики врожденной пневмонии и прогнозирования исходов перинатальной патологии у глубоко недоношенных детей.

## **НАУЧНАЯ НОВИЗНА**

Предложена концепция, раскрывающая значение содержания пневмопротеинов (сурфактантного протеина D и белка клеток Клара), а также кателицидина LL37 и секреторной фосфолипазы A2 в формировании врожденной пневмонии. Выявлено увеличение концентрации сурфактантного протеина D и белка клеток Клара в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и сыворотке крови,



кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате у глубоко недоношенных новорожденных с врожденной пневмонией в раннем неонатальном периоде, что является защитным механизмом. У детей, сформировавших бронхолегочную дисплазию в исходе врожденной пневмонии, установлено отсутствие включения этих защитных механизмов: выявлено не достаточное содержание сурфактантного протеина D и белка клеток Клара в бронхоальвеолярной лаважной жидкости. Летальный исход при врожденной пневмонии сопряжен с низкой концентрацией кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате, что обосновывает определение данного белка у глубоко недоношенных новорожденных для прогнозирования исходов врожденной пневмонии.

Обосновано значение определения содержания пневмопротеинов для дифференциальной диагностики инфекционных и неинфекционных дыхательных расстройств и прогнозирования исходов пневмонии у глубоко недоношенных детей.

Впервые определены молекулярно-генетические факторы риска развития врожденной пневмонии и неблагоприятных исходов перинатальной патологии у глубоко недоношенных детей. Установлено, что присутствие в генотипе аллелей *DRB1*\*04 и *DRB1*\* 15, а также генотипа *DQB1*\*0302/0602 ассоциируется с высоким риском развития врожденной пневмонии; присутствие в генотипе аллелей *DRB1*\*13, *DQA1*\*0103, *DQB1*\*0501, генотипов *DRB1*\*13/13; *DQA1*\*0101/0103; *DQB1*\*0501/0602; *GSTM1* +/+ *GSTT1* +/+ *DRB1*\*13 *DQA1*\*0501 *DQB1*\*0301 снижает риск развития данной патологии. Выявлены маркеры предрасположенности к формированию БЛД в исходе дыхательных нарушений у глубоко недоношенных новорожденных: делеционные варианты в генах глутатион-S-трансфераз *GSTM1* 0/0 и *GSTT1* 0/0, а также их сочетанное присутствие. Впервые установлены молекулярно-генетические предикторы летального исхода и инвалидности со стойким нарушением здоровья у глубоко недоношенных детей: наличие аллеля *DQA1*\*0301 и генотипа *GSTM1*+/+ *GSTT1*+/+ *DRB1*\*13 *DQA1*\*0301 *DQB1*\*0602. Наличие аллеля *DQA1*\*0401 и генотипов *GSTM1* - *GSTT1* +/+ *DRB1*\*11 *DQA1*\*0501 *DQB1*\* 0301 и *GSTM1* -

*GSTT1*+/+ *DRB1*\*15 *DQA1*\*0102 *DQB1*\*0602 ассоциировано с наступлением летального исхода у обследованных детей.

Впервые проведена комплексная оценка состояния здоровья детей, родившихся глубоко недоношенными. К трехлетнему возрасту более 75% обследованных детей имеют нормальное физическое развитие; более 55% - не имеют отклонений в нервно-психическом развитии; более 55% детей имеют II группу здоровья. Дети, перенесшие врожденную пневмонию, чаще имеют III группу здоровья и более высокие показатели инвалидности в сравнении с детьми, не имевших инфекционной патологии легких при рождении.

Впервые разработана автоматизированная программа прогнозирования исходов перинатальной патологии у глубоко недоношенных детей.

## **ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ**

Существенно дополнены и расширены фундаментальные представления о патогенезе врожденной пневмонии:

- выявлены особенности содержания пневмопротеинов у глубоко недоношенных детей с врожденной пневмонией;
- установлены особенности механизмов регуляции воспаления на местном и системном уровне у глубоко недоношенных детей с врожденной пневмонией;
- установлена роль молекулярно-генетических факторов в развитии врожденной пневмонии и неблагоприятных исходов перинатальной патологии у глубоко недоношенных детей;

Проведена комплексная оценка состояния здоровья детей в возрасте 3-х лет, родившихся глубоко недоношенными с врожденной пневмонией.

Неонатологической практике предложены:

- новый способ прогнозирования БЛД (патент на изобретение № 2439569 от 12.11.2010г «Способ прогнозирования бронхолегочной дисплазии у детей с врожденной пневмонией»);

- новый способ прогнозирования исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных (патент на изобретение № 2543343 от 27.01.2015г «Способ прогнозирования исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных»);
- автоматизированная программа прогнозирования неблагоприятного исхода перинатальной патологии у глубоко недоношенных детей с массой тела при рождении менее 1500г.
- алгоритм диагностики врожденной пневмонии и прогнозирования исходов перинатальной патологии у глубоко недоношенных детей.

## **МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Проведено одноцентровое сравнительное когортное проспективное исследование. Исследование проводилось на базах отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных, отделения выхаживания недоношенных детей II этапа стационара клиники, кабинета катамнеза ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия.

В исследование были включены недоношенные дети со сроком гестации менее 32 недель, массой тела при рождении менее 1500г и имевшие дыхательные нарушения при рождении.

Использовались клинико-anamнестические, лабораторные и инструментальные методы исследования. Обработка результатов исследования осуществлялась с помощью методов математической статистики.

Все стадии исследования соответствовали законодательству Российской Федерации, международным этическим нормам и нормативным документам исследовательских организаций, а также одобрены этическим комитетом ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия (выписка из протокола № 4 от 14 октября 2015 года).

## ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

- Врожденная пневмония у глубоко недоношенных новорожденных является негативным фактором формирования как ранних (БЛД, ретинопатия, ВЖК, ПВЛ) так и отдаленных последствий (стойкие нарушения состояния здоровья).
- Развитие врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных ассоциировано с повышенным содержанием пневмопротеинов в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и сыворотке крови, кателицидина LL37 и секреторной фосфолипазы A2 в фарингеальном аспирате.
- Недостаточное содержание пневмопротеинов в бронхоальвеолярной жидкости является предиктором формирования БЛД, кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате – летального исхода при врожденной пневмонии.
- Наличие в генотипе глубоко недоношенных новорожденных полиморфизмов генов системы детоксикации (глутатион-S-трансфераз) и главного комплекса гистосовместимости HLA II класса (локусов *DRB1*, *DQA1*, *DQB1*) определяет повышенный риск развития у них врожденной пневмонии и неблагоприятных исходов перинатальной патологии.
- Разработанный алгоритм диагностики врожденной пневмонии и прогнозирования исходов перинатальной патологии у глубоко недоношенных детей позволяет повысить качество оказания медицинской помощи данной категории пациентов.

## СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Достоверность результатов исследования подтверждается проработкой большого количества литературных источников, достаточным числом пациентов, включенных в исследование, использованием современных методов статистической обработки данных, что подтверждается актом проверки достоверности первичной документации от 01.09.2021 года.

## АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ

Основные результаты диссертационной работы доложены на конференции молодых ученых, посвященной 30-летию со дня основания БУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова» (11 марта 2010г), на 90-й юбилейной итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Неделя науки - 2010», посвященной 80-летию ИГМА, г. Иваново (19-23 апреля 2010г), IV, X, XI, XII Всероссийском образовательном конгрессе «Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии» (Москва, 2011, 2017, 2018, 2019, 2021), I, IV съезде детских врачей Ивановской области (Иваново, 2011, 2018), V Российской конференции «Иммунология репродукции. Теоретические и клинические аспекты» (Иваново, 2012), XI Российском конгрессе «Инновационные технологии и в педиатрии и детской хирургии (Москва, 2012 ), XVII, XVIII, XIX съезде педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии» с международным участием (Москва, 2013, 2017, 2022), XVIII, XIX, XX, XXI Конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2015, 2016, 2018, 2019), II, III Общероссийской конференции с международным участием «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству» (СПб, 2016, 2017), XII Межрегиональной научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (Иваново, 2016), IX междисциплинарная всероссийская конференция с международным участием по акушерству, перинатологии, неонатологии «Здоровая женщина-здоровый новорожденный» (СПб, 2016), Международном Российско-Узбекском симпозиуме «Актуальные проблемы иммунологии репродукции» (Иваново, 2017), III Всероссийской образовательно-научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (Иваново, 2017), IV междисциплинарном медицинском форуме «Актуальные вопросы врачебной

практики» (Владимир, 2017), XI, XIII Региональном научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Ярославль, 2018, Казань, 2020), XIII Ежегодном конгрессе специалистов перинатальной медицины «Современная перинатология: организация, технологии, качество» (Москва, 2018), XXII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя - 2021» (Москва, 2021).

Апробация работы проведена на заседании апробационной комиссии ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова» Минздрава России (протокол № 141 от 04.10.2021).

### **ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

По материалам диссертации опубликовано 53 печатные работы, из них 24 – в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, из них 14 – в журналах, индексируемых в базе данных SCOPUS.

### **ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРА**

Все использованные в работе данные получены при непосредственном участии автора. Планирование работы, определение методологии и общей концепции диссертационного исследования проводились совместно с научным консультантом доктором медицинских наук, профессором Т.В.Чаша. Автором осуществлен отбор пациентов в группы, их клиническое обследование с последующим наблюдением до 3-летнего возраста с заполнением разработанных персональных клинических карт наблюдения и информированного согласия законного представителя для каждого пациента. Осуществлен забор биологического материала (периферическая венозная кровь, фарингеальный аспират и бронхоальвеолярная лаважная жидкость).

Проведен анализ данных литературы по вопросам инфекционной и неинфекционной патологии легких у недоношенных детей, формирования и исходов бронхолегочной дисплазии, катamnестического наблюдения. Осуществлен анализ и интерпретация результатов клинико-лабораторных исследований, их статистическая обработка, сформулированы выводы и практические рекомендации. Представление результатов работы в научных публикациях и в виде докладов осуществлял лично автор и в соавторстве. Личный вклад автора является определяющим и составляет более 80%.

### **ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ**

Работа изложена на 259 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственного исследования, обсуждения полученных данных, выводов, практических рекомендаций, списка использованных сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 140 отечественных и 246 иностранных источника. Диссертация иллюстрирована 53 таблицами, 14 рисунками и 2 схемами.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 ЧАСТОТА, ЭТИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕЗ, КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, ДИАГНОСТИКА ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИИ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВорожденных

Частота пневмонии по разным источникам варьирует и зависит от гестационного возраста: диагностируется приблизительно у 1% доношенных и 10% - недоношенных новорожденных, а также, является причиной летальных исходов в 10-38% случаев [22, 31, 110]. По данным Michael D. Nissen [296] пневмония является причиной 750000 – 1,2 млн неонатальных смертей в год, что составляет 10% от детской смертности в мире. Другие авторы дают более скромную оценку частоты пневмоний у новорожденных, однако эта проблема является тяжелым бременем для здравоохранения и особо актуальна для развивающихся стран [210, 220].

Врожденная пневмония (код по МКБ-Х Р23) – острое инфекционное заболевание с преимущественным поражением респираторных отделов легких и накоплением воспалительного экссудата внутри альвеол, выявляемым при объективном и рентгенологическом обследовании, как правило, в первые 72 часа жизни [21].

Данное определение врожденной пневмонии принято в Российской Федерации в настоящее время. Однако временной интервал появления клинических симптомов врожденной пневмонии дискутируется во всем мире. Некоторые авторы предполагают, что признаки врожденной пневмонии могут стартовать только в первые 48 часов жизни, другие - в течение раннего неонатального периода и более, что связано с особенностями возбудителя [139, 243]. Так, например, при инфицировании вирусом простого герпеса во время вагинальных родов клинические симптомы пневмонии могут стартовать в первые 2 недели жизни [197, 258, 265], хламидийные пневмонии — на 3–6-й неделях жизни, уреаплазменная — на 2-й неделе жизни [110, 287], что обусловлено



таксономическими особенностями этих возбудителей, относящихся к группе атипичных возбудителей пневмонии у человека.

Врожденные пневмонии в зависимости от периода действия инфекционного агента могут быть антенатальными (внутриутробными) и интранатальными (когда заражение происходит чаще всего во время вагинальных родов) [19]. Время действия возбудителя влияет на старт клинических симптомов. При антенатальном инфицировании манифестация клинических симптомов возможна сразу после рождения или в течение нескольких часов. При интранатальном инфицировании – в течение первых трех суток жизни, а иногда и более, в зависимости от типа возбудителя.

Этиология и эпидемиология врожденных пневмоний зависят от клинических условий, популяции, к которой принадлежит ребенок, гестационного возраста ребенка. Причиной могут быть бактерии, вирусы, простейшие и грибы.

Врожденная пневмония, возникшая антенатально, развивается в результате восходящей инфекции через хориоамниотические оболочки или в результате гематогенного трансплацентарного инфицирования плода и часто вызывается условно-патогенной флорой и возбудителями TORCH-инфекции (*Toxoplasma gondii*, *Rubella*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex virus*, *Varicella zoster virus*, *Enteroviruses*, *Treponema pallidum*, *Listeria monocytogenes* и др.). При этом пневмония может возникнуть изолированно или быть частью врожденного генерализованного инфекционного процесса [46, 110, 243]. Среди вышеперечисленных путей инфицирования плода центральная роль все-таки принадлежит восходящему пути инфицирования, с развитием хориоамнионита [286]. Распространенность хориоамнионита (инфекции амниотической полости и плодных оболочек) по данным разных авторов, колеблется от 0,5 до 10,5 %. Отмечено, что хориоамнионит чаще встречается при преждевременных родах (от 19 до 74 %), чем при срочных (от 4 до 16 %) [42]. Хориоамнионит чаще развивается у женщин, страдающих хроническими генитальными и экстрагенитальными инфекциями, на фоне угрозы прерывания беременности, преждевременного излития околоплодных вод. Поражение компонентов

фетоплацентарной системы происходит непосредственно инфекционными агентами или за счет цитотоксического действия активированных цитокинов [144]. Следует отметить отсутствие прямой корреляции между тяжестью инфекционного процесса у матери и исходом беременности на фоне хориоамнионита [116]. Условно-патогенная микрофлора при изменениях показателей иммунного гомеостаза может приводить к развитию инфекционного процесса в плодово-материнском комплексе и наоборот, активная инфекция при беременности может не нарушать ее нормального течения, если процесс инфицирования не сопровождается выраженной реактивностью иммунной системы. Длительная или повторная инфекция приводит к чрезмерной активации функций плаценты и срыву компенсаторных механизмов защиты с развитием необратимых деструктивных процессов сначала в плаценте, а затем и инфицированием всей амниотической полости с последующим развитием инфекционного процесса у плода.

Известно, что хориоамнионит часто выявляется при отсутствии доказанного возбудителя. Отчасти это может быть связано с методами диагностики, применяемыми в лабораториях, которые не могут обнаружить некультивируемые виды. В исследовании Nan YW et al. было показано, что у части обследованных ими беременных с внутриамниотическим воспалением возбудители не были выявлены стандартными методами, а у части – внутриамниотическое воспаление протекало бессимптомно. При проведении дополнительных методов исследования у данных пациенток были выявлены следующие виды возбудителей: *Fusobacterium nucleatum*, *Leptotrichia* (*Sneathia*) spp., *Bergeyella* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Bacteroides* spp. и *Clostridiales* [375].

Наиболее часто диагностируется врожденная пневмония, возникшая интранатально. При этом пневмония может быть инфекционного и не инфекционного генеза. При аспирации околоплодными водами, содержащими материнские лейкоциты и клеточный детрит, может развиваться врожденная асептическая пневмония. Однако чаще происходит аспирация ребенком инфицированных околоплодных вод. В таких случаях основными причинами

заболевания являются микроорганизмы, колонизирующие половые пути матери: *Streptococcus* групп А и В, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus epidermidis* и *aureus*, *Chlamydia trachomatis*, *Listeria monocytogenes*, грамотрицательные энтеробактерии (*E. coli*, *Klebsiella* spp.), *Enterococcus* spp., *Haemophilus* spp (особенно генитальных штаммов биотипа IV) [84, 243, 256, 287, 291].

В акушерской практике в последнее время особое внимание уделяют стрептококкам группы В (СГВ) – *Streptococcus agalactiae*. СГВ могут вегетировать в кишечнике и мочеполовых органах здоровых женщин, не проявляя себя (бессимптомное носительство) [75]. По данным многих исследований колонизация беременных женщин СГВ существенно не влияла на течение беременности, родов, послеродовой период. Инфицирование плода СГВ происходит при прохождении его через родовые пути матери. Существуют данные, что СГВ могут проходить интраканаликулярно через интактные плодные оболочки и внутриутробно поражать плод. Риск инфицирования плода СГВ, увеличивается при длительном безводном промежутке и отсутствии профилактической антибактериальной терапии. Известно, что 30–70 % рожениц, колонизированных СГВ, передают их детям. При этом клинически выраженная инфекция развивается у небольшой части новорожденных, приблизительно у 1 из 100 колонизированных СГВ [51]. Частыми заболеваниями новорожденных, вызванными СГВ, являются пневмония, менингит, сепсис [326]. Чем меньше гестационный возраст новорожденного, тем тяжелее протекает инфекция. Есть исследования о необходимости обследования беременных на наличие СГВ и, при обнаружении СГВ в мочеполовых путях, проводить антибактериальную терапию для профилактики внутриутробного инфицирования плода [150, 376].

Безусловно, причиной интранатальной пневмонии могут быть и более «экзотические» инфекционные агенты, такие как *Streptococcus pneumoniae*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma*, *Pasteurella multocida*, *Legionella pneumophila*, *Citrobacter diversus*, *Bacillus cereus* и др [256].

*Streptococcus pneumoniae* редко вызывает врожденную пневмонию и неонатальный сепсис. Клинические особенности течения этой инфекции у

ребенка сходны с другими неонатальными инфекциями, но исход особенно тяжел (смертность – 50%, неврологические последствия – 13%). Новорожденные чаще всего инфицируются во время родов через естественные родовые пути, которые были колонизированы *S. pneumoniae*, несмотря на редкость вагинального носительства *S. pneumoniae* (от 0,03 до 0,75%) [343]. *Ureaplasma* редко вызывает тяжелые инвазивные заболевания у доношенных новорожденных. Но у недоношенных детей *Ureaplasma* часто связана с развитием пневмонией и формированием, в последствии, бронхолегочной дисплазии. При врожденной микоплазменной пневмонии возможен как трансплацентарный путь (при наличии у матери инфекции верхних дыхательных путей), так и вертикальный путь передачи инфекции и у недоношенных детей также сопровождается формированием бронхолегочной дисплазии. *Bacillus cereus* – причина некротической пневмонии у недоношенных детей [199, 364, 379].

Респираторные вирусы также могут быть причиной врожденных пневмоний. Однако чаще они являются причиной развития неонатальных пневмоний, но уже в позднем неонатальном периоде, после выписки из родильного дома. Респираторные заболевания во время беременности встречаются у 1/3 беременных, до 11% беременных имеют признаки инфекции нижних дыхательных путей (бронхиты, пневмонии), у многих имеется бессимптомное носительство. Повышенная восприимчивость к респираторным инфекциям во время беременности связана с тем, что по мере прогрессирования беременности усиливается иммуносупрессия, направленная на сохранение аллоантигенного плода, уменьшается общий объем легких, на 10% повышается частота дыхательных движений. Сочетание повышенного потребления кислорода с понижением функционального остаточного объема легких обуславливает значительное функциональное напряжение альвеолярной вентиляции у женщин в конце беременности и уменьшает ресурс компенсаторных реакций, что способствует развитию острых респираторных инфекций [30, 201, 257]. Возможность трансплацентарной, вертикальной или интранатальной передачи респираторных вирусов очень невелика, хотя перенесенные острые респираторно-

вирусные инфекции во время беременности могут приводить к неблагоприятным исходам для плода и новорожденного, включая замедление внутриутробного роста, преждевременные роды, антенатальную смерть. Если ОРВИ возникает в третьем триместре беременности, зачастую развиваются вторичные бактериальные пневмонии, которые и имеют большой риск как для беременной, так и для плода. Наиболее частыми возбудителями острой респираторно - вирусной инфекции у беременных являются: риновирус, аденовирус, грипп, коронавирус, респираторно-синцитиальный вирус [192, 214]. При ОРВИ во время беременности может наблюдаться вирусемия, вирусы попадают с плазмой крови матери в межворсинчатое пространство, а из него – в ворсины хориона и плаценту, которые становятся входными воротами для вируса и непосредственно вовлекаются в инфекционный процесс [54]. Другим путем заражения может быть не внутриутробный, а вдыхание аэрозолей, содержащих вирусы, от инфицированных матерей сразу после родов. Что, например, имеет место при респираторной инфекции, вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2 (2019-nCoV), а также сообщалось в исследовании Reiterer F. относительно респираторно-синцитиального вируса [310, 321, 333]. Хотя в последнем случае, развившуюся пневмонию, даже при действии фактора интранатально, трудно назвать врожденной.

Простейшие также могут являться причиной внутриутробной пневмонии. Кроме *Toxoplasma gondii*, которая является одним из этиологических факторов TORCH – синдрома, среди простейших большое значение имеет в развитии внутриутробной генерализованной инфекции с одним из очагов в легких, малярия. Данное заболевание актуально не только для африканского континента, Индии и Индонезии, Южной и центральной Америки. Из-за активной миграции населения, в Европе ежегодно регистрируется до 7500 случаев привозной малярии [307], до 100 случаев в год – в Российской Федерации [47]. Малярия, передаваясь трансплацентарным путем, делает вклад в развитие не только генерализованной инфекции у новорожденных, но и является причиной развития врожденных

пороков развития. При этом необходимо помнить, что врожденная малярия трудно поддается диагностике в не эндемичных районах [182, 198].

Еще один представитель простейших, являющийся причиной врожденной пневмонии – *Trichomonas vaginalis*. Как правило, инфицирование происходит во время прохождения по родовому каналу и у новорожденных встречается крайне редко. В результате длительного воздействия *T. vaginalis* возможно участие данной инфекции в преждевременном разрыве плодных оболочек и быть причиной преждевременных родов. Инфекция, как правило диагностируется у детей от матерей, не состоящих на учете по беременности [178, 292]. Инфекция становится причиной именно врожденной пневмонии, а не системного инфекционного процесса с одним из очагов в легких, что характерно при внутриутробном инфицировании другими простейшими (*Toxoplasma gondii* и *Plasmodium malariae*).

Еще одна причина врожденной пневмонии - грибковая инфекция. Наиболее вероятным способом инфицирования ребенка является интранатальный путь во время родов через естественные родовые пути при вагинальной колонизации *Candida* у матери. Кроме того, вагинальный кандидоз может быть причиной преждевременного разрыва плодных оболочек и как следствие - вертикальная передача *Candida* плоду [284, 289]. Несмотря на высокую частоту возникновения вульвовагинального кандидоза во время беременности (13–20%), грибы рода *Candida* редко вызывают хориоамнионит. Однако, одно неонатальное исследование показало, что хориоамнионит является важным фактором риска инвазивного раннего кандидоза у детей с чрезвычайно низкой массой тела при рождении, что приводит к высокой смертности (71%) и частоте нарушений развития нервной системы (86%) [211]. У здоровых доношенных детей имеется естественная резистентность организма к грибковой инфекции, обусловленная защитными свойствами поверхности тела ребенка, вступающей в контакт с возбудителем, а также высокой фагоцитарной активностью и другими факторами неспецифического и специфического иммунитета. У недоношенных новорожденных отмечается относительная

незрелость всех перечисленных механизмов антиинфекционной защиты, что в критическом состоянии делает их особо уязвимыми к грибковой инфекции [69]. При этом развивающаяся внутриутробная пневмония возникает не самостоятельно, а чаще как часть общего инфекционного процесса (кандидозного сепсиса) [382]. Наиболее частыми типами *Candida*, вызывающими внутриутробную инфекцию, являются *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. spp.* [177, 362].

Очевидно, что в развитии внутриутробной пневмонии большое значение имеет гестационный возраст ребенка, состояние иммунной системы, состояние системы сурфактанта и бронхолегочного аппарата, а также наличие пороков развития бронхиального дерева. Игрет, также, немаловажную роль, перенесенная внутриутробная гипоксия, аспирация мекония и/или околоплодных вод.

Недостаточность противоинфекционной защиты у недоношенных новорожденных детей, особенно глубоко и экстремально недоношенных, позволяет рассматривать их как своеобразный вариант иммунокомпрометированных пациентов, и поэтому врожденные пневмонии у них возникают чаще, протекают тяжелее и вызываются «необычными» возбудителями, например, *Ureaplasma* и не только *urealyticum*, но и *Ureaplasma parvum*, *Candida* и т.д. В сравнении с доношенными детьми, врожденные инфекции, вызванные одинаковым возбудителем, у недоношенных могут иметь молниеносное течение, сопровождаться септическим шоком, респираторным дистрессом и летальным исходом, наступающим в течение нескольких часов [105].

### **Патогенез врожденной пневмонии**

Концепция патогенеза врожденной пневмонии сводится к следующему (эти процессы стандартны для легочного повреждения любой этиологии): в ответ на повреждение легких сначала возникает острый воспалительный ответ, характеризующийся отеком и привлечением специализированных лейкоцитов к месту повреждения, чтобы инициировать восстановление. Рекрутированные

воспалительные клетки дополнительно секретируют провоспалительные молекулы, которые активируют провоспалительные сигнальные пути. Разрешение воспаления затем индуцируется активацией и секрецией эндогенных противовоспалительных факторов, которые в конечном итоге приводят к разрешению острого воспалительного ответа и возвращению к гомеостазу. Процесс активации и разрешения воспаления должен быть строго регламентирован, сбалансирован, в противном случае это может привести к осложнениям [196].

Повреждение клеток дыхательного эпителия при врожденной пневмонии связано с прямым действием возбудителя на клетки респираторного тракта у детей. В результате воздействия этиологического фактора (бактериальная или вирусная флора, грибы, простейшие) в дистальных отделах дыхательных путей, и возникающая при этом воспалительная реакция, приводят к клеточному повреждению, которое нарушает газообмен, легочную вентиляцию, кровоснабжение альвеол и в итоге мешает нормальной дыхательной механике, газообмену. Повреждение клеток респираторного тракта может происходить и под действием токсинов, выделяемых бактериями [142, 243]. Некоторые вирусные агенты, в том числе ЦМВ, ВПГ вызывают лизис или апоптоз альвеолоцитов, которые являются вирусными клетками-хозяевами при легочной инфекции [255].

Один из механизмов развития врожденной пневмонии – воздействие патогена и/или его токсина на сурфактант. Патогены и/или их токсины либо непосредственно разрушают сурфактант, либо токсины помогают плотно закрепиться патогенам на сурфактанте. Микробные протеиназы разрушают белки, ассоциированные с сурфактантом [236]. Кроме того, некоторые компоненты сурфактанта служат питательной средой для определенных патогенных микробов, что объясняет сродство патогенов к альвеолоцитам. Так, некоторые штаммы стафилококков используют для своего роста липопротеиды, неэстерифицированные жирные кислоты и углеводы сурфактанта. Синегнойная палочка, для своего роста использует белковую фракцию сурфактанта [315].



Реакция клеток респираторной системы недоношенных новорожденных на инфекционные агенты зависит от врожденных иммунных реакций, как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета. Инфекционные агенты запускают растворимые, клеточные и цитоплазматические рецепторы, которые активируют сигнальные каскады, вызывающие высвобождение сурфактантных белков, дефензинов, интерферонов, лактоферрина, окислительных продуктов и других веществ иммунной системы, обладающих антимикробной активностью. Однако иммунные реакции сразу после рождения могут быть незрелыми и необходимо несколько недель для развития достаточных иммунных ответов на антигенные раздражители [193, 206]. Кроме того, недоношенные дети изначально имеют неоптимальные иммунные реакции, часто – провоспалительной направленности [44, 77, 78, 357].

У недоношенных детей имеются как анатомические особенности строения органов дыхания, так и особенности противoinфекционной защиты (сниженный мукоцилиарный клиренс, меньшее количество реснитчатых клеток, незрелая сурфактантная система, специфика клеточного и гуморального звена иммунитета и т.д.), которые имеют большое значение в патогенезе врожденной пневмонии [72, 117, 206].

Обструкция дыхательных путей происходит не только за счет нарушения мукоцилиарного клиренса, но и связи с сокращением гладких мышечных пучков, расположенных в задней стенке бронхов, из-за медиаторов воспаления, таких как С3а и С5а, также ухудшая эффективную вентиляцию [272]. Эти медиаторы воспаления являются частью системы комплемента, активирующейся под действием инфекционного агента.

Нарушение кровоснабжения в легких происходит не только в результате развития отека, но и в результате непосредственного взаимодействия некоторых бактерий с тромбоцитами. Выделяемые при этом воспалительные прокоагулянты и вазоконстрикторы, повышают сопротивление легочных сосудов, вызывая их спазм, что приводит к нарушению альвеолярной перфузии и, соответственно, нарушению вентиляции [231].

Патоген, действуя на легочную ткань, приводит к системному воспалительному ответу. Элементы воспалительного ответа врожденной иммунной системы имеют решающее значение для активации местных врожденных иммунных клеток, а также для сдерживания и уничтожения патогена. Примеры этих элементов включают цитокины, хемокины, белки острой фазы, антимикробные пептиды, систему комплемента, белок клеток Клара и т.д. Но уровни антимикробных пептидов в пуповинной крови, такие как бактерицидный белок, повышающий проницаемость клеток, кателицидин, секреторная фосфолипаза A2 и человеческий  $\beta$ -дефенсин 2, значительно снижены у недоношенных детей по сравнению с доношенными детьми, в то время как другие (кальпротектин, дефенсины нейтрофилов человека 1–3) снижены в пуповинной крови новорожденных всех гестационных возрастов по сравнению со взрослыми [314].

В патогенезе врожденной пневмонии свою роль играет белок клеток Клара (БКК). Этот белок вырабатывается клетками Клара, которые расположены в терминальных бронхиолах. Клетки Клара интересны не только тем, что выделяют специфический белок, но и тем, что являются тканеспецифическими стволовыми клетками для бронхиолярной системы. БКК играет важную иммуносупрессивную и противовоспалительную роль в легких, ингибируя активность провоспалительных факторов: фосфолипазы A2 и фосфолипазы C, фактора некроза опухоли, интерлейкина 1. Кроме того, он влияет на миграцию моноцитов и фагоцитов, подавляет хемотаксис фибробластов [311, 324]. Нелипидный компонент секрета клеток Клара служит материалом для гидрофазы сурфактанта [12]. Известно, что чем меньше гестационный возраст ребенка, тем у него менее зрелые клетки Клара, и, соответственно, тем меньше они производят белка, выполняющего противовоспалительную роль [190].

При врожденной пневмонии под действием флоры происходит ингибирование свойств поверхностно-активного вещества (сурфактанта) [321], при этом у недоношенных детей отмечается его изначальный дефицит. Недостаточное количество сурфактанта важно не только как недостаток

поверхностно-активного вещества, стабилизирующего поверхностное натяжение альвеол, но и как недостаточность сурфактантных белков, входящих в состав сурфактанта. Известные в настоящее время сурфактантные протеины – А, В, С и Д играют роль в противоинфекционной защите. Сурфактантный белок А активирует макрофагальный фагоцитоз и моноциты, В – участвует в защите от свободных радикалов и регулирует иммунный ответ, отмечается взаимосвязь сурфактантного белка С с бактериальными липополисахаридами, сурфактантный протеин Д - стимулирует фагоцитоз и принимает участие в активации дендритных клеток и Т-лимфоцитов. Однако сурфактантные белки В и С не играют существенной роли в противоинфекционной защите легких человека [235, 285, 383, 385]

Клиническое проявление вышеперечисленных инфекционных и иммунных процессов – наличие дыхательных расстройств у недоношенного ребенка с нарушениями не только в дыхательной, но и в кровеносной системе, а также других систем организма. Понимание этих звеньев патогенеза позволит своевременно и правильно проводить лечение.

Недоношенные новорожденные, особенно глубоко недоношенные, после перенесенного воспаления в легких склонны к развитию БЛД [325]. Поэтому необходимо направлять все усилия для минимизации последствий патологического воспалительного процесса в легких.

### **Диагностика врожденной пневмонии**

Клиническая картина врожденной пневмонии у новорожденных, в том числе и недоношенных мало отличается от такой при респираторном дистресс синдроме. Диагноз врожденной пневмонии основывается на сочетании результатов клинического осмотра, рентгенографических данных и подтверждающих лабораторных данных [20, 33, 134].

При осмотре обращают на себя внимание наличие дыхательных нарушений (увеличение частоты дыхания или эпизоды апноэ; экспираторный стон; втяжение

податливых участков грудной клетки), сонливость или изменения неврологического состояния.

Перкуторно при пневмонии отмечается укорочение перкуторного звука; аускультативно – ослабленное дыхание, могут выслушиваться влажные хрипы [68].

Один из ранних косвенных признаков – дисфункция ЖКТ: плохое сосание, срыгивание, возрастание остаточного содержимого желудка, зачастую с примесью желчи. На фоне дыхательных расстройств появляются клинические признаки интоксикации (нарушение микроциркуляции, бледность или серость кожных покровов, увеличение размеров печени и селезенки, может развиваться патологическая желтуха). Кашель и лихорадка для новорожденных не характерны.

Для подтверждения диагноза используют основные и вспомогательные диагностические критерии [68, 21].

Рентгенологические данные при врожденной пневмонии не патогномоничны. По данным Haneу, при изучении корреляций между патологоанатомической и рентгенографической картинами, выявлено, что у 13% больных пневмонией рентгенографическая картина не отличалась от таковой при РДС, а у 17% – от изменений при транзиторном тахипноэ новорожденных [57].

Рентгенологическая картина зависит от фазы и тяжести заболевания. Для неонатального периода нехарактерны долевы пневмонии. Чаще, поскольку воспаление носит обычно системный характер, инфильтраты локализуются в обоих легких. Могут быть не только инфильтративные, но и очаговые тени на рентгенограмме, а также усиление бронхо-сосудистого рисунка и/или локальное понижение прозрачности [21, 104, 219].

Диффузное снижение прозрачности легочных полей, ретикулогранулярный рисунок и полосы просветлений в области корня легкого (воздушная бронхограмма) не специфичны для врожденной пневмонии и могут выявляться и при раннем неонатальном сепсисе, РДС.

Рентгенографическая картина пневмонии не всегда не зависит от возбудителя. Однако для бактериальной пневмонии характерно расширение тени сердца [288]. Пневмоторакс также чаще сопровождает бактериальную пневмонию [373]. Кроме того, типичной для бактериальных пневмоний является неомогенная интенсивная пятнистая паренхиматозная инфильтрация с консолидацией участков. Для вирусных пневмоний – диффузные туманные легкие или ретикулярная узловатость [321].

В последнее время ультразвуковое исследование стало важным методом диагностического обследования и мониторинга заболеваний легких. УЗИ легких имеет много преимуществ перед рентгеновским исследованием и компьютерной томографией, включая точность, надежность, дешевизну и простоту, а также тот факт, что ультразвук не несет риска рентгеновского повреждения [275, 341].

При эхографическом исследовании для пневмонии характерно отсутствие воздушности легочной ткани. Однако генез этого состояния (безвоздушность) определить не всегда возможно. Безоговорочно свидетельствуют о пневмонии – наличие участков повышенной эхогенности и деструкции в легочной ткани. Вспомогательным дифференциально-диагностическим признаком может служить смещение средостения: при ателектазе легкого или его доли оно смещается в сторону поражения, при пневмонии, даже с поражением всего легкого, средостение остается на месте. Для доказательства наличия трансбронхиального дренирования деструктивного очага в легочной ткани у новорожденных с пневмониями используется фонационная проба. Проба у новорожденного выполняется на фоне плача. В В-режиме минимальное количество воздуха в области деструктивного очага выглядит как точечное или линейной формы эхогенное включение, возможно (но не всегда) с акустическим феноменом «хвоста кометы». При положительной пробе в проекции гиперэхогенных включений определяются яркие мерцающие зоны окрашивания. Формирование абсцессов любых размеров в легких при пневмонии у новорожденных встречается крайне редко. В некоторых случаях УЗИ имеет решающее значение, перед

рентгенологическим, из-за расположения абсцесса – когда на рентгенограмме полость абсцесса накладывается на тень средостения. Пневмонии новорожденных часто сопровождаются выпотом в плевральную полость, который при УЗИ характеризуется наличием между плевральными листками анэхогенной жидкости, расширением плевральной полости [32]. Для вирусной пневмонии типична картина «белого легкого» [15].

В исследовании Колтунова Е.Ф. с соавт. (2017) показано, что определенная совокупность изменений при УЗИ легких у недоношенных новорожденных может быть прогностическим признаком формирования БЛД. Таким прогностическим критерием является наличие нескольких типов УЗ-картины пневмонии у одного пациента (например, полисегментарная в одном легком и кортикальной или сегментарной в другом) [127].

Как рентгеновское, так и ультразвуковое исследование легких имеют ряд преимуществ и недостатков. Они должны служить дополнительными диагностическими методами для предоставления точной, своевременной и надежной информации.

С целью проведения оптимального этиотропного лечения необходима идентификация возбудителя. Один из методов выделения возбудителя пневмонии у новорожденных - исследование бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) с последующим посевом на питательные диагностические среды или методом ПЦР и ИФА. Данная процедура может проводиться, в том числе с помощью фиброоптической бронхоскопии. Неонатальная бронхоскопия может служить важным диагностическим и терапевтическим инструментом в лечении неонатальных заболеваний легких. Выделение возбудителя из образцов БАЛ помогает оптимизировать принятие клинических решений в лечении неонатальных инфекций легких [290]. Однако забор и исследование бронхоальвеолярного лаважа возможно только у интубированных пациентов. Кроме того, из-за технических проблем и повышенного риска, связанного с выполнением этих методов у новорожденных, инвазивный отбор проб из дыхательных путей не считается диагностическим подходом первой линии в

отделении интенсивной терапии новорожденных. Более оптимальным является исследование мокроты из трахеи, поскольку данная процедура является менее инвазивной по сравнению с бронхоальвеолярным лаважом. Однако, также возможна только у интубированных младенцев. Анализ крови для выявления возбудителя имеет решающее значение для диагностики системного инфекционного заболевания, однако положительный результат такого исследования, не является ни необходимым, ни достаточным для диагностики пневмонии [243].

Идентификация возбудителя не всегда возможна. Поэтому более простым является цитологическое исследование бронхоальвеолярной жидкости, содержимого трахеи и мокроты. При этом изучаются особенности строения клеток, клеточного состава органов тканей, жидкостей организма человека в норме и при патологических процессах. По составу клеток можно диагностировать вариант и степень воспалительных изменений эпителия дыхательных путей [175]. В лаважной жидкости чаще всего встречаются альвеолярные макрофаги. Эти клетки играют важную роль в системе легочной защиты и входят в состав сурфактантной системы. В норме, среди клеток лаважной жидкости определяют: альвеолярные макрофаги 87–93%, эозинофилы – менее 1%, лимфоциты – 7–10%. У здорового человека нейтрофильные лейкоциты редко встречаются в эндопульмональной цитограмме - не более 1,5% [109]. Цитологическое исследование бронхоальвеолярных или трахеальных образцов не всегда технически возможно.

Учитывая, что ни клинически, ни лабораторно-диагностически врожденная пневмония не имеет патогномоничных критериев, неоднократно учеными предполагались попытки выявления биохимических маркеров воспаления легочной ткани. Много исследований посвящено изучению цитокинов, интерферонов, хемокинов, семейства факторов некроза опухолей при пневмонии как у взрослых, так и у детей [45, 78, 172].

Прокальцитонин, С-реактивный белок и пресепсин изучены наиболее широко и продемонстрировали самую высокую диагностическую эффективность по сравнению с другими биомаркерами [167].

Проадреномедуллин, растворимый пусковой рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках-1, неоптерин и пентраксин-3 нуждаются в дополнительных исследованиях для подтверждения их диагностической ценности. Для синдекана-4 и липокалина-2 в настоящее время недостаточно данных [329].

В недавнем исследовании Oherle K. et al (2020) было установлено, что сниженное содержания инсулиноподобного фактора роста<sup>1</sup> в дыхательных путях приводит к восприимчивости новорожденных к респираторным инфекциям. Это связано с тем, что альвеолярные фибробласты продуцируют инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1), который управляет делением и созреванием предшественников врожденных лимфоидных клеток 3-го типа С (ILC3). ILC3 вырабатывают цитокины и медиаторы, участвующие в развитие лимфоидной ткани в эмбриогенезе, защите от внеклеточных патогенов. У недоношенных детей с бронхолегочной дисплазией, характеризующейся прерыванием постнатального альвеолярного развития и повышенной заболеваемостью респираторными инфекциями, отмечается еще большее снижение IGF1 и количества легочного ILC3 [260].

Учитывая, что вышеперечисленные биохимические факторы не являются специфичными и могут повышаться и в других условиях, поиск биохимических маркеров воспаления бронхолегочной системы у глубоко недоношенных новорожденных является актуальным.



## 1.2 ПОНЯТИЕ ПНЕВМОПРОТЕИНОВ. ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ПНЕВМОПРОТЕИНОВ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

Пневмопротеины – специфические белки эпителия легкого, то есть такие белки, которые вырабатываются преимущественно эпителиальными клетками легких [344]. К ним относят белки, вырабатываемые альвеолоцитами 1 и 2 типа, а также клетками Клара, расположенными в терминальных бронхиолах.

Что касается альвеолоцитов 1 типа, то их роль в выработке каких-либо протеинов, обладающих антиинфекционной защитой до сих пор не ясна. Альвеолоциты 1 типа представляют собой тонкие плоские клетки, через которые происходит газообмен, поддерживают ионный и жидкостный баланс на границе раздела воздух-жидкость и могут быть источником провоспалительных медиаторов. Однако последние исследования Marconett CN et al. [202], показали, что альвеолоциты 1 типа могут экспрессировать гены *aquaporin*, *advanced glycosylation end-product-specific receptor (AGER, previously “RAGE”)*, *podoplanin*, *caveolin 1 and homeobox-only protein homeobox*, функции которых не до конца изучены у человека, что важно для создания эффективных клеточных методов лечения заболеваний легких [298].

Альвеолоцитами 2 типа синтезируются белки сурфактанта – А, В, С и Д, высокомолекулярный гликопротеин Krebs von den Lungen-6 (KL-6), гликопротеин альвеоломуцин [74]. Все четыре типа сурфактанных белков синтезируются еще и клетками Клара, однако выделяются в просвет альвеолы в незрелом виде [268].

Белок KL-6 является пролиферативным и хемотаксическим фактором для фибробластов, усиливает экспрессию коллагена 1-го и 3-го типов. Таким образом, KL-6 можно рассматривать как одну из ключевых молекул, вовлеченных в эпителиально-мезенхимальное взаимодействие и фиброзирование при интерстициальных заболеваниях легких и чувствительным маркером, характеризующим активность фиброзирующих процессов в легких [270].

Альвеомуцин (или муциновый антиген 3EG5) отражает степень пролиферации альвеолоцитов 2-го типа при фиброзирующих процессах в легких.

Повышение концентрации альвеолумуцина в сыворотке крови отмечено у пациентов с интерстициальными заболеваниями легких и внебольничными пневмониями, причем степень повышения коррелировала со степенью тяжести заболевания [128].

Более изученными пневмопротеинами являются белки сурфактанта. Легочный сурфактант выстилает изнутри альвеолы и снижает поверхностное натяжение, тем самым предотвращая ателектаз во время дыхания. В состав сурфактанта входит около 50 различных липидов и 4 белка [306].

Кроме белков SP-A, SP-B, SP-C и SP-D относительно недавно в легочной ткани были идентифицированы еще два новых сурфактантных белка: сурфактантный белок G (SP-G) и сурфактантный белок H (SP-H). Это открытие показывает то, что наше представление о составляющих частях легочной системы и их функции еще не является полным. Ни один из новых белков не имеет существенного структурного сходства с ранее описанными четырьмя белками сурфактанта, однако они оба проявляют физико-химическое сходство с SP-B и SP-C, включая свойства поверхностного натяжения альвеол, необходимые для адсорбции границы раздела легких. SP-H также может оказывать иммуномодулирующее действие, поскольку он подавляется цитокинами, такими как IL-1 $\beta$  и IL-23, и активируется липополисахаридами через TLR-2 и 4 [380].

Состав сурфактанта достаточно хорошо изучен. Липиды составляют до 90% его молекулярной массы, из которых наиболее распространенными являются фосфатидилхолин, фосфатидилглицерин и фосфатидилинозитол; в частности, фосфатидилхолин составляет приблизительно 70% липидной части сурфактанта и существует в виде относительно уникальной формы, известной как дипальмитоилфосфатидилхолин. Среди липидов, кроме фосфолипидов, имеются нейтральные липиды, представленные в основном холестерином [304]. 10% сурфактанта представлены сурфактантными белками. Только вместе с белками сурфактанта дипальмитоилфосфатидилхолин обеспечивает поверхностную активность сурфактанта. <2% от сухой массы сурфактанта составляют гидрофобные белки SP-B и SP-C, которые хранятся с поверхностно-активными

фосфолипидами. Оба белка играют роль в снижении поверхностного натяжения. Однако среди них SP-B является незаменимым белком [194]. В связи с чем, некоторые производители сурфактанта включают его в свой состав. SP-B эффективнее SP-C в достижении оптимального поверхностного натяжения альвеол. Однако в тандеме с SP-C равновесное поверхностное натяжение альвеол достигается быстрее, что указывает на комбинированный эффект. Не смотря на то, что сурфактантным белкам В и С отводится роль в участии поверхностного натяжения, все же они могут принимать участие и в противоинфекционной защите. В эксперименте было показано, что SP-C может связываться с липополисахаридом грамотрицательных бактерий через CD14 [261], что в результате может снижать уровень провоспалительных цитокинов и инфильтрацию гранулоцитами в жидкости бронхоальвеолярного лаважа [355].

Относительно SP-B в эксперименте также было показано, что он уничтожает бактерии путем лизиса бактериальной клеточной мембраны. Эта активность SP-B была установлена в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Антимикробная активность SP-B оказалась сопоставима с активностью природного антибиотика дермасептина bI. Помимо прямого уничтожения бактерий, SP-B также вызывал значительную агрегацию бактерий, но эта функция была возможна только с помощью SP-A и SP-D, что, вероятно, играет роль в усилении фагоцитоза, активации комплемента и / или ингибировании микробной колонизации и инвазии [155, 267]. Однако, клиническими исследованиями у людей полученные результаты не подтверждены. Возможно, что прямая антибактериальная активностью SP-B у человека ингибируется поверхностно-активными фосфолипидами и как оказалось, данная функция не избирательна к бактериям, так как также лизируются эритроциты, что позволяет предположить, что эндогенный SP-B может не играть существенной роли в противоинфекционной защите легких человека [354].

Большая роль в противоинфекционной защите отводится гидрофильным белкам сурфактанта SP-A и SP-D [236]. Эти гидрофильные белки

являются растворимыми рецепторами (коллектинами), которые могут связываться с поверхностью микробной стенки и облегчать процесс адсорбции и фагоцитоза патогенов. Взаимодействие сурфактантных протеинов с патогенами осуществляется через взаимодействие с липидными фрагментами широкого спектра микроорганизмов, с полисахаридами оболочки грамотрицательных бактерий, гликопротеинами вирусов, включая оболочечные РНК-вирусы (например, респираторно-синцитиальный вирус, вирус иммунодефицита человека, гриппа). Связывание и агрегация патогенов сурфактантными белками А и D зависит от присутствия ионов кальция [203, 353]. Сурфактантные белки А и D содержат несколько сайтов связывания, которые служат для агрегации не только бактерий и вирусов, но и грибов [166].

Одной из функций белка А сурфактанта является прямое уничтожение патогенов за счет формирования пор в их липидной бислойной мембране, что приводит к инактивации возбудителя. В частности, этому механизму подвержены некоторые грамотрицательные микроорганизмы, включая *Escherichia coli*. Однако Кузьменко А.И. и его коллеги продемонстрировали, что окислительный стресс подавляет этот механизм. Это первостепенная проблема при патологиях легких, при которых требуются большие количества дополнительного кислорода [347].

Также, SP-A и SP-D участвуют в клеточном гомеостазе, связываясь и способствуя клиренсу апоптотических клеток [366]; способствуют фагоцитарной активности незрелых дендритных клеток, происходящих из костного мозга человека [173, 350]. Очень важным моментом оказалось, что SP-A и SP-D, способствуют фагоцитозу и клиренсу патогенов без индукции воспалительного ответа, так как воспаление в легких может повредить тонкую и деликатную альвеолярно-капиллярную мембрану и негативно повлиять на газообмен [317, 345].

Сурфактантный белок А (SP-A) представлен двумя разновидностями: SP-A1 и SP-A2, между которыми существуют структурные и функциональные различия. SP-A2 проявляет более высокую активность в отношении его способности усиливать фагоцитоз альвеолярных макрофагов. Более того, SP-A1 и SP-A2 по-

разному усиливают агрегацию липополисахаридов бактерий и образование монослоя фосфолипидов. SP-A1 более эффективно влияет на структурную организацию сурфактанта по сравнению с SP-A2 [207].

Большая часть сурфактантных белков представлена сурфактантным протеином D. Сурфактантный протеин D состоит из мономеров (43 кДа), которые собираются в тримеры посредством дисульфидного сшивания и подвергаются дальнейшей мультимеризации до более высокого порядка, такого как додекамеры и олигомеры ( $\sim 1$  МДа). Т.е., это достаточно крупная молекула и у здоровых людей SP-D за пределами легких в физиологических условиях не определяется. Его перемещение из легкого в кровь происходит в результате изменения альвеолярно-капиллярной проницаемости. Процесс «вымывания» SP-D из альвеол в кровеносное русло изучен недостаточно. Это может происходить при хронических обструктивных заболеваниях легких, бронхиальной астме, при инфекционных заболеваниях легких, у курильщиков, а также при использовании неоптимальных параметров ИВЛ, приводящих к повреждению легких. Поэтому SP-D был предложен в качестве потенциального биомаркера целостности эпителия при заболеваниях легких [195, 339]. Основная роль сурфактантного белка D заключается в предотвращении микробной колонизации эпителия и ингибировании роста патогенных микроорганизмов после их прикрепления к эпителию, привлечения фагоцитов и стимулирования фагоцитоза путем связывания со специфическими рецепторами в рамках этой функции. Учитывая многочисленные эффекты, SP-D считают аналогом IgA в адаптивной иммунной системе. Безусловно, основное место синтеза SP-D – альвеолоциты II типа. Но как оказалось, локализация и синтез SP-D не ограничиваются дыхательной системой. Было обнаружено, что SP-D широко распространен в экзокринных железах и эпителиальных клетках по всему организму, выполняя все ту же противоинфекционную роль [277].

В отличие от SP-A, сурфактантный белок D блокирует не только бактерии, вирусы и грибы, но и может взаимодействовать с многоклеточными патогенами легких. Было показано, что он связывается с фукозосодержащими

гликоконъюгатами, присутствующими на поверхности гельминта *Schistosoma mansoni*, а также с личиночными стадиями этого паразита [349].

Одна из уникальных функций SP-D – возможность связываться с вирусом тяжелого острого респираторного синдрома (SARS), предотвращая проникновение вирусов, а также усиливая их агрегацию, опсонизацию и поглощение фагоцитами [371].

В дополнение к своей роли в антимикробной защите, SP-D ингибирует специфическое связывания IgE с аллергенами и блокирует индуцированное аллергеном высвобождение гистамина из человеческих базофилов [279].

Предполагается, что SP-D может быть вовлечен в процессы, отличные от иммунопротекции, и принимать участие в супрессии опухолей головного мозга, желудочно-кишечного тракта и легких [277].

Учитывая многочисленные эффекты SP-D интересна его роль в развитии заболеваний легких у глубоко недоношенных детей. На настоящий момент выявлено, что содержание SP-D в БАЛЖ у недоношенных детей меньше, чем у своевременно рожденных [252]. Исследования уровня SP-D у недоношенных новорожденных оказались немногочисленными и противоречивыми. М. Dahl и соавт. (2005) выяснили, что содержание SP-D в пуповинной и капиллярной крови у недоношенных новорожденных зависит от многих факторов, в том числе от курения матерей и способа родоразрешения [351]. Последующие их исследования уточнили, что высокий уровень SP-D в пуповинной крови и капиллярной крови в 1-й день связан с повышенным риском развития РДС и инфекций [352]. М.W. Beresford, N.J. Shaw (2003) в своем исследовании выявили, что БЛД и летальный исход развиваются у преждевременно родившихся детей с низким содержанием сурфактантного протеина D в лаважной жидкости на 2е–3и сутки жизни [164]. Однако исследования Vinod S. и соавт (2019) показали, что повышенный уровень SP-D в сыворотке крови (уровень которого повышается из-за нарушения целостности альвеолярного эпителия и альвеолярно-капиллярной мембраны) не является полезным маркером для БЛД. Снижение уровня SP-D в сыворотке у мальчиков по сравнению с девочками в течение первой недели жизни, вероятно,

связано с гендерными различиями в созревании легких, что согласуется с более высокой частотой развития БЛД у мужчин [338].

Белок клеток Клара также является представителем пневмопротеинов. Этот белок продуцируется клетками Клара, локализованными по всей длине трахеобронхиального дерева, особенно их много в терминальных бронхиолах. Клетки Клара – это кубические или цилиндрические эпителиальные клетки, не снабженные ресничками, отличительной особенностью которых является наличие цитоплазматических гранул, указывающие на их секреторную функцию. Клетки расположены на базальной мембране и выступают в просвет бронхиол [106, 189].

Основные функции клеток Клара следующие:

- выделяют первичные компоненты внеклеточного вещества, выстилающего дыхательные бронхиолы;
- выступают в роли стволовых клеток и служат источником для пополнения не только собственной популяции, но и реснитчатых клеток;
- регулируют содержание секрета (жидкости) в дистальных сегментах дыхательных путей;
- играют ключевую роль в биотрансформации вдыхаемых ксенобиотиков вместе с цитохромом Р-450 и монооксигеназой со смешанными функциями;
- секретируют белок (белок клеток Клара – БКК) [171, 368].

Клетки Клара в норме обновляются очень медленно. При действии на них патологического фактора их пролиферативная активность изначально возрастает, но при длительном воздействии патологического агента клетки Клара истощаются и гибнут. Такая ситуация встречается при бронхиальной астме, хронической обструктивной болезни легких, у курящих людей [12, 145, 169, 337].

Протеин, выделяемый клетками Клара, в научных журналах называется по-разному: утероглобин, человеческий протеин 1, уропротеин 1, секреторный протеин клеток Клара (CCSP), протеин 10 кДа (CC10), протеин 16 кДа (CC16). Это связано с тем, что данный протеин был изучен не только у человека, но и у других млекопитающих, таких как крысы, мышей, кроликов, собак и в зависимости от источника выделения имеет разные названия. В настоящее время установлено,

что все перечисленные низкомолекулярные протеины идентичны по своим свойствам. У человека ген CC16 локализован в 11-й хромосоме в области, занятой генами, вовлеченными в регуляцию воспаления.

Молекулярная масса белка клеток Клара небольшая и составляет 15,840 кДа, что оправдывает аббревиатуру CC16 с целью обозначения названия этого протеина. БКК выявлен у человека в бронхоальвеолярном смыве, сыворотке крови, моче, амниотической жидкости. Предполагаемый путь распространения БКК следующий: из просвета бронхиол путем трансудации этот протеин проходит через эпителий и попадает в системный кровоток. Далее током крови переносится в почки, где в проксимальной части извитых канальцев происходит его катаболизм. Нерасщепленные белковые молекулы попадают мочу. В связи с этим становится понятным, почему белок клеток Клара определяется и в сыворотке периферической крови, и в моче [240].

Развитие клеток Клара в легких плода и их функциональная активность начинается с 15-й недели беременности. С этого срока белок клеток Клара определяется в околоплодных водах человека. В 39 недель содержание БКК увеличивается в 25 раз, отражая тем самым морфогенез и рост ацинарных структур, а также дифференцировку клеток Клара фетального легкого. Таким образом, БКК может служить маркером степени дифференцировки популяции клеток Клара в развивающемся легком плода человека [106].

CC16 играет противовоспалительную, иммуномодулирующую и восстанавливающую функции дыхательных путей. Белок клеток Клара является эндогенным регулятором, который модулирует легочные воспалительные реакции – регулирует активность ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  [168, 188]. В исследовании Hung CH с соавт (2004) была выявлена прямая роль БКК в регуляции Т-клеточных реакций, что приводит к сильной вероятности того, что этот белок способен ограничивать степень эффекторной функции Т-хелперов 2 [318]. Кроме того, БКК является ингибитором фосфолипазы А2 и фосфолипазы С. Это важная функция БКК, т.к. фосфолипазы, являясь белками острой фазы, приводят к воспалению и нарушают функцию сурфактанта посредством гидролиза сурфактантных липидов. БКК



подавляет и другие провоспалительные цитокины: фактора некроза опухоли, интерлейкина 1. Кроме того, он влияет на миграцию моноцитов и фагоцитов, подавляет хемотаксис фибробластов. СС16 обладает антипротеазной активностью по отношению к эластазе полиморфноядерных лейкоцитов человека. Вероятно, клетки Клара являются источником антилейкопротеазы, которая обнаружена в жидком надэпителиальном слое периферических воздухоносных путей человека [184, 185, 384].

Учитывая эффекты БКК была предположена его роль в качестве потенциального маркера бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей. Проведенные исследования показали противоречивый результат. Было обнаружено, что уровни СС16 в жидкости бронхоальвеолярного лаважа снижаются как у доношенных, так и у недоношенных вентилируемых новорожденных, у которых впоследствии развилась БЛД [188].

Несколько исследований касались уровней БКК в сыворотке крови. В исследовании Sarafidis K с соавт. (2008) были выявлены более высокие концентрации СС16 через 2 ч после рождения в сыворотке крови у детей, которым проводилась ИВЛ и у которых в последующем развилась бронхолегочная дисплазия [186]. Однако исследование Loughran-Fowlds AS с соавт (2012) показало, что уровни БКК в сыворотке крови характеризуются ранним послеродовым всплеском и этот скачок может представлять собой начало защитного каскада от послеродового повреждения легких. У детей, развившим БЛД такого всплеска не было [212]. При исследовании уровня СС16 в трахеальном аспирате было выявлено его снижение уже в 1 день жизни у детей, у которых развилась БЛД, в сравнении с детьми без БЛД [187]. У недоношенных новорожденных с клиническими и лабораторными признаками инфекциями были выявлены более высокие концентрации этого белка в трахеальном аспирате [190]. При низких концентрациях СС16 в пуповинной крови недоношенных детей прогнозировали развитие БЛД [200].

Таким образом, до настоящего времени содержание сурфактантного протеина D и белка клеток Клара в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и сыворотке крови, их роль в формировании респираторного дистресс синдрома, пневмонии, бронхолегочной дисплазии у глубоко недоношенных новорожденных не до конца изучены. Отсутствуют данные об изменении содержания этих белков в течение неонатального периода.

### **1.3 АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ (КАТЕЛИЦИДИН LL37) И ИХ РОЛЬ В ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОЙ ЗАЩИТЕ ОРГАНИЗМА**

Антимикробные пептиды (АМП) – вещества, имеющие антибиотические свойства и являются неспецифическими факторами гуморального иммунитета, обладают эндотоксин-нейтрализующей и иммуномодулирующей активностью, обеспечивая защиту против широкого спектра микроорганизмов (грамотрицательных и грамположительных бактерий, грибов, вирусов и простейших), а также обладают цитотоксической активностью [3, 281, 372].

Механизм действия АМП заключается в разрушении структуры мембран инфекционных агентов, ингибции синтеза белка и ДНК и подавление клеточных процессов, включая свертывание белка, синтез клеточной стенки и метаболический обмен [174, 302].

Интерес к антимикробным пептидам вызван тем, что злоупотребление антибиотиками ускорило появление микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью, и существует острая необходимость в новых антибиотиках. При этом АМП, рассматриваются как новый класс антибиотиков.

Количество природных соединений, обладающих противомикробной активностью очень много, но к пептидам относят только генно-кодированные, синтезированные рибосомами полипептидные антимикробные субстанции, которые в длину составляют менее 100 аминокислотных остатков. В зависимости от их молекулярного строения, АМП можно разделить на 4 основных класса:

- Линейные  $\alpha$ -спиральные структуры без дисульфидных связей (кателицидины, магаинины и т.д.);
- Молекулы со структурой  $\beta$ -листа, которая стабилизируется за счет свойственных ей дисульфидных связей ( $\alpha$ - и  $\beta$ -дефензины);
- С преобладанием одной или более аминокислот (индолицидин и т.д.);
- Петлевые пептиды с одной дисульфидной связью (бактенецин и т.д.).

Самыми многочисленными представителями являются дефензины и кателицидины. У человека единственным представителем кателицидина является LL37, состоящий из 37 аминокислот. Ген кателицидина LL37 расположен на третьей хромосоме. Изначально, вырабатываясь как пропептид, LL37 накапливается в нейтрофильных гранулах, а также В-клетках, Т-лимфоцитах, лимфоцитах, моноцитах, естественных клетках-киллерах и мастоцитах. LL37 могут вырабатывать эпителиальные клетки кожи, желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей, слюнных желез, мочевыводящих путей, половых путей. Особенно много его секретируется в тканях, подверженных воздействию микробов окружающей среды, особенно в тканях с плоскоклеточным эпителием (рот, язык, шейка матки, влагалище, пищевод и т. Д.) или в производных этими тканями жидкостях. В разных типах клеток и тканей имеются разные физиологические концентрации LL37 и часто его содержание увеличивается в инфицированных или иным образом поврежденных тканях [99, 245, 386]. Критическая роль кателицидина в борьбе с инфекцией была продемонстрирована как у пациентов, так и на экспериментальных моделях животных, где было обнаружено, что обследуемые с дефицитом кателицидина более склонны к инфекции [360].

Данный кателицидин обладает широким спектром антимикробной активности в отношении различных патогенных микроорганизмов, включая прокариотические и грибковые организмы, вирусы. Его положительный заряд позволяет ему связываться с отрицательно заряженными фосфолипидными мембранами прокариотических клеток (бактерий), вызывая проникновение через мембраны, образование трансмембранных пор и бактериальный лизис [328].

Механизм действия LL37 против грибов (изучено действие в отношении *Candida Albicans* и *A. Fumigatus*) связан также с изменением клеточной стенки гриба (повышая ее проницаемость), в последующем пептид проникает внутрь гриба, воздействуя на внутриклеточные мишени. Действие кателицидина дозозависимо и в небольшом количестве он не действует фунгицидно, но может ингибировать инвазию гриба [151, 276].

С другой стороны, LL37 обладает разнообразными модулирующими свойствами в отношении иммунной системы, такими как рекрутирование воспалительных клеток и высвобождение воспалительных факторов, демонстрируя как провоспалительные, так и противовоспалительные эффекты. Эти эффекты зависят от микроокружения и фона заболевания. Например, присутствие 10 мкг / мл LL-37 во время дифференцировки моноцитов в макрофаги способствует провоспалительному ответу, что приводит к подавлению IL-10 и повышению IL-12p40. Кроме того, воздействие LL-37 усиливает выработку воспалительных цитокинов, управляемую передачей сигналов IL-1. Противовоспалительные свойства LL-37 демонстрируют его антагонистическое действие на IFN gamma, TNF-alpha, IL-4 и IL-12 ответов в различных типах клеток. Сильный противовоспалительный ответ посредством модуляции передачи сигналов TLR также приписывается LL-37. Таким образом, окружающий и клеточный контекст, в котором происходит воздействие LL-37, важен для определения направления клеточного ответа [244, 248].

Особенностью LL-37 является то, что он также обладает различными хемотаксическими свойствами. Действуя через рецептор FPR2, LL-37 индуцирует миграцию нейтрофилов и эозинофилов [249]. Трансактивация рецептора эпидермального фактора роста с помощью LL-37 вызывает миграцию кератиноцитов и, таким образом, способствует заживлению ран [254].

LL37 проявляет защитные эффекты против опосредованного токсином *A Clostridium difficile* повреждения толстой кишки и подвздошной кишки за счет регуляции продукции воспалительных цитокинов [358].

Эффекты LL-37 на регуляцию апоптоза также дозозависимы, зависят от типа вовлеченной клетки и условий, в которых происходят апоптоз. Кератиноциты и эпителиальные клетки кишечника реагируют на более высокие дозы этого пептида. Другие типы клеток (остеобласты, эпителий дыхательных путей) более чувствительны к проапоптотическим эффектам умеренных доз LL-37 [359, 365].

LL37 принимает участие в различных аутоиммунных заболеваниях. Но функция его не всегда защитная. Так, при псориазе, системной красной волчанке, ревматоидном артрите выявлена избыточная экспрессия LL37 и осуществляются его провоспалительные эффекты [153, 266, 293, 320].

При саркоидозе и гранулематозе Вегенера отмечена защитная роль LL37 [146, 247].

При атеросклерозе действие LL 37 является двойным. С одной стороны, предположено участие LL-37, связанного с иммунными комплексами, способствующее выработке IFN типа I, что стимулирует развитие атеросклероза. С другой стороны, доказано, что при установке коронарных стентов, обработанных LL-37, он предотвращал ретромбоз в стенте, стимулируя реэпителизацию стента, что ограничивало неоинтимальную гиперплазию [162, 294].

Выявлено тормозящее влияние кателицидина LL37 на онкопатологию в организме. Такое действие связано с тем, что катионный кателицидин электростатически реагирует с анионными мембранными компонентами раковых клеток, разрушая их мембраны и вызывая гибель клеток, т.е. оказывает антипролиферативное действие на раковые клетки [181, 334]. Однако роль LL37 в опухолевых процессах не одинакова, даже в пределах одной системы. Так во время прогрессирования от атрофического гастрита до аденокарциномы желудка экспрессия LL-37 снижается, а при раке толстого кишечника выявлено его тормозящее действие. Все эти данные указывают на то, что кателицидин может играть важную роль в предотвращении воспаления, связанного с бактериями, и, возможно, также канцерогенеза в желудочно-кишечном тракте. Предполагается,

что дефицит этого пептида может способствовать образованию воспаления и рака [179].

Проведено исследование КЦ LL37 в амниотической жидкости у беременных с преждевременным разрывом плодных оболочек. Показано, что высокий уровень кателицидина в амниотической жидкости может рассматриваться как маркер развития воспалительных осложнений в виде хориоамнионита [147].

Интересным представляется исследование об уровне антимикробных пептидов в грудном молоке. Антимикробные пептиды грудного молока могут играть важную роль в послеродовом периоде в предотвращении позднего неонатального сепсиса, что связано со способностью этих пептидов уменьшать избыточный бактериальный рост и транслокацию бактериальной флоры. В этом исследовании было также продемонстрировано, что концентрации антимикробных пептидов достаточны в замороженном грудном молоке от женщин, родивших раньше срока, для подавления наиболее значимых микроорганизмов, вызывающих сепсис у недоношенных новорожденных детей [154].

Необходимо отметить, что антимикробные пептиды (в том числе кателицидины) проявляют свои эффекты в присутствии витамина Д. Исследование Wang TT с соавт. (2004) показало, что 1,25 (ОН) D индуцирует экспрессию антимикробного пептидного гена в изолированных кератиноцитах, моноцитах и нейтрофилах человека и клеточных линиях человека. Кроме того, 1,25 (ОН) D индуцирует соответствующее увеличение антимикробных пептидов и их активность против патогенных микроорганизмов, включая синегнойную палочку. 1,25(ОН) (2) D (3), таким образом, непосредственно регулирует экспрессию генов антимикробных пептидов, раскрывая потенциал от его аналогов в лечении от оппортунистических инфекций [204].

Важным эффектом LL-37 является индукция ангиогенеза. В эксперименте было показано, что LL-37 индуцирует ангиогенез, опосредованный

формилпептид-подобным рецептором 1, экспрессируемым на эндотелиальных клетках. Применение LL-37 привело к неоваскуляризации на кроличьей модели при ишемии задних конечностей. Пептид непосредственно активирует эндотелиальные клетки, что приводит к увеличению пролиферации и образованию сосудистых структур в культивируемых эндотелиальных клетках. Снижение васкуляризации во время заживления ран у мышей, дефицитных по CRAMP, мышинному гомологу LL-37 / hCAP-18, показывает, что кателицидин-опосредованный ангиогенез важен для неоваскуляризации кожных ран *in vivo*. Взятые вместе, эти результаты демонстрируют, что LL-37 / hCAP-18 является многофункциональным антимикробным пептидом с центральной ролью во врожденном иммунитете, связывая защиту хозяина и воспаление с ангиогенезом и артериогенезом [148].

Учитывая, что кателицидин может выделяться эпителием дыхательных путей, изучалась его участие в заболеваниях бронхолегочной системы. В исследовании Golec M. (2014) было выявлено, что содержание антимикробных белков у пациентов с саркоидозом было больше, чем у здоровых индивидов. На основании полученных данных было выдвинуто предположение, что увеличение содержания антибактериальных белков в лаважной жидкости может быть защитным противoinфекционным фактором у больных саркоидозом [180].

У взрослых пациентов с пневмонией, вызванной различными видами бактерий, сывороточные концентрации LL-37 были значительно выше, чем у здоровых людей, что предполагает его важную роль в защитных механизмах при инфекционных заболеваниях легких. При этом не было статистически значимых различий в уровне LL-37 у пациентов с пневмонией, вызванной различным этиологическим агентом. У пациентов с оппортунистической бактериальной инфекцией уровень этого кателицидина в крови был значительно ниже, чем у здоровых людей, что отражает ослабленную реактивность иммунной системы у этих пациентов [336].

При прогрессирующем течении туберкулеза выявлено увеличение экспрессии гена антимикробного белка. Имеются работы, показывающие участие этого пептида в формировании ХОБЛ: у пациентов с ХОБЛ I-II стадии значительно повышены уровни LL-37 в бронхоальвеолярной жидкости, при III-IV стадии ХОБЛ содержание кателицидина резко снижается, что предполагает глубокие изменения врожденного иммунитета при прогрессировании заболевания [180, 208].

Исследования показали, что наиболее распространенным антимикробным пептидом в легких новорожденных является дефензин. Также было выявлено, что содержание антимикробных пептидов меньше у недоношенных по сравнению с доношенными. Низкие уровни антимикробных пептидов в легких недоношенных детей могут быть одним из факторов, ведущих к незрелой врожденной иммунной системе и способствующих повышенной восприимчивости новорожденных к респираторным инфекциям [216].

Легочные или системные инфекции у доношенных и недоношенных новорожденных были связаны со значительно повышенными концентрациями кателицидина LL-37 и дефензинов hBD-1 и hBD-2 в жидкости бронхоальвеолярного лаважа. Предположено, что молекулы активируются в ответ на инфекцию и воспаление и, вероятно, представляют собой эффекторные молекулы системы дыхательной защиты [331].

Проводились научные исследования, целью которых было сравнение содержания КЦ LL37 в сыворотке крови беременных и в пуповинной крови их детей в зависимости от способа родоразрешения. Результаты исследования показали, что у детей, родившихся естественным путем, содержание кателицидина LL37 в пуповинной крови в 3 раза больше, чем у детей, родившихся путем операции кесарево сечение. Независимо от способа родоразрешения уровень этого антимикробного пептида в материнской крови коррелировал с содержанием КЦ LL37 в пуповинной крови. Возможно, происходит трансплацентарная передача этого пептида и его уровень у новорожденного в пуповинной крови может определяться материнскими резервами [283].



Изучение уровня кателицидина у новорожденных проводилось не только при заболеваниях легких, но и при инфекционных заболеваниях других органов и систем. Выявлено, что увеличение концентрации LL37 в сыворотке крови на 1-ые сутки после операции является ранним маркером развития постоперационных осложнений после хирургического лечения врожденных аномалий развития желудочно-кишечного тракта [96]. При этом в норме меконий и кал новорожденного содержат антимикробные пептиды (в том числе LL37), защищая кишечник новорожденного, и могут быть вовлечены в контроль начальной колонизации [152].

У глубоко недоношенных детей исследований кателицидина LL37 мало, что диктует необходимость проведения дополнительных исследований этого белка у данной категории пациентов с дыхательными нарушениями.

#### **1.4 РОЛЬ ФОСФОЛИПАЗЫ В РАЗВИТИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА**

Фосфолипазы представляют собой ферменты класса гидролаз, которые участвуют в метаболизме фосфолипидов. Среди фосфолипаз различают 4 семейства – А, В, С и D. Физиологическая функция фосфолипаз обусловлена тем, что принимая участие в гидролизе фосфолипидов, они поддерживают и регулируют состав липидов мембран и регулируют воспалительный процесс [131].

В развитие воспалительного ответа большое значение имеет фосфолипаза A2, поскольку именно она принимает участие в метаболизме арахидоновой кислоты. Среди фосфолипаз A2 выделяют 5 групп: секреторные, цитозольные, Ca<sup>2+</sup>-независимые, лизосомальные и ацетилгидролазы фактора активации тромбоцитов. Роль цитозольных фосфолипаз в воспалении известна давно. Цитозольные фосфолипазы A2 разрушая мембранные фосфолипиды, высвобождают полиеновые кислоты. А полиеновые жирные кислоты, примером которых является арахидоновая кислота и лизофосфолипид, затем превращаются

в медиаторные соединения, включая простагландины, лейкотриены и фактор активации тромбоцитов, обладая собственной биологической (провоспалительную) активностью - усиливают сосудистую проницаемость, вызывают агрегацию тромбоцитов, оказывают вазоактивное действие, а также обладают цитотоксичностью и детергентными свойствами [319].

Интересна роль секреторных фосфолипаз A2 (sPLA2). В настоящее время они рассматриваются как «бактерицидные sPLA2», находясь в организме в физиологических концентрациях, т.к. эффективно гидролизуют фосфолипиды мембран бактерий, в частности грамположительных, и вирусов, таким образом, являясь молекулой врожденного иммунитета [262, 273]. С другой стороны, sPLA2 являются «воспалительными», т.к. при чрезмерной активации способствуют активному образованию цитокинов и усилению воспаления [209, 308].

Во многих исследованиях показано, что при патологических состояниях, основой которой является хроническое воспаление (сердечно-сосудистые заболевания, метаболический синдромом, ревматоидный артрит, сепсис, онкопатология, анафилаксия и др.), содержание sPLA2 в сыворотке крови и/или воспалительном экссудате положительно коррелируют с тяжестью заболеваний [370].

Полученные данные легли в основу поиска и разработки ингибиторов фосфолипаз в качестве потенциальных противовоспалительных средств для лечения многих заболеваний [305].

Исследование секреторной фосфолипазы A2 при различных заболеваниях легких также представляет интерес, т.к. данный фермент высоко экспрессируется альвеолярными макрофагами, тучными клетками и эпителиальными клетками дыхательных путей. sPLA2 принимает участие в патогенезе легочных заболеваний через различные механизмы: участие в воспалении и рециркуляции сурфактанта в легких, поскольку непосредственно гидролизует фосфолипиды сурфактанта [205, 269].

Проведенные исследования у взрослых показали, что уровни sPLA2 подтипа IIА (sPLA2-IIА) в жидкости бронхоальвеолярного лаважа коррелируют с

клинической тяжестью острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), рака легких, ХОБЛ, бронхиальной астмой [176, 271, 323].

У младенцев проведены немногочисленные исследования активности секреторной фосфолипазы A2. Так, в 2013 году De Luca с соавт. опубликовали данные своей работы, в которой показали, что общая активность sPLA2 повышается у детей первого года жизни с ОРДС. При этом активность sPLA2 коррелирует с некоторыми медиаторами воспаления, поверхностным натяжением, растяжимостью легких и нарушением оксигенации, что в свою очередь может коррелировать с прогнозируемым уровнем смертности из-за более длительного пребывания в отделении реанимации, механической вентиляции легких и кислородной поддержки [191].

Позднее, тот же автор показал, что подтип ПА является основной изоформой фосфолипазы в легких недоношенных младенцев. Новорожденные, нуждающиеся в повторном лечении сурфактантом, имеют более высокую ферментативную активность sPLA2, более высокий уровень медиаторов воспаления и меньшее количество фосфолипидов. При этом активность фермента обратно коррелировала с адсорбцией поверхностно-активного вещества, общим количеством фосфолипидов и фосфатидилхолина.

Также было установлено, что экзогенно введенный сурфактант значительно снижает общую активность общей фосфолипазы и подтипа ПА, увеличивает адсорбцию диолеилфосфатидилглицерина и адсорбцию поверхностно-активного вещества. При этом активность фермента коррелировала с продолжительностью вентиляции и баллом респираторной заболеваемости в постнатальном возрасте 12 месяцев, но не была связана со смертностью, бронхолегочной дисплазией или другими отдаленными респираторными исходами [356].

Одно исследование показало повышенную активность sPLA2 в плазме крови новорожденных с подозрением на инфекцию и сепсис [335].

Исследование фосфолипазы у глубоконедоношенных новорожденных с врожденной пневмонией представляет интерес. Воспалительный процесс представляет собой естественную (физиологическую) реакцию самозащиты

организма на повреждающие агенты, и механизм его действия включает в себя ряд сложных реакций. Однако в некоторых случаях этот процесс может стать патологическим, нанося организму большой вред.

На настоящий момент уже разработано множество противовоспалительных препаратов, основной мишенью которых, обычно, является фермент циклооксигеназа, но их использование может вызывать побочные эффекты и не всегда эффективно. В связи с этим, проводится множество исследований, направленных на создание новых лекарств с новыми механизмами действия. В этом смысле внимание нацелено на секреторную фосфолипазу A2, которая является основной мишенью для разработки ингибиторов, т.к. многочисленные исследования доказали участие этого фермента в патогенезе многих заболеваний (артрит, бронхиальная астма, онкопатология, болезнь Альцгеймера и др.) [330].

Изучение роли секреторной фосфолипазы A2 при врожденной пневмонии позволит выявить новые звенья патогенеза данного заболевания и, возможно стать основой для разработки критериев использования новых лекарственных препаратов с новым патогенетическим механизмом действия в будущем.

У новорожденных уже имелись попытки применения ингибитора фосфолипазы с РДСН, однако активность препарата *in vivo* оказалась значительно ниже, чем *in vitro*, поэтому поиск в этом направлении продолжается [377].

## **1.5 РОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННОГО ВКЛАДА В РАЗВИТИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ. ГЕНЫ II ФАЗЫ СИСТЕМЫ ДЕТОКСИКАЦИИ И ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ**

Наличие инфекционно-воспалительной патологии во время беременности может привести к реализации воспаления у ребенка. Но и в настоящий момент остается невозможным точное прогнозирование перехода внутриутробного инфицирования в инфекционно-воспалительную патологию у новорожденных.

При этом локализация инфекции может быть различной (пневмония, везикулопустулез, менингит, конъюнктивит и др). На примере стрептококка группы В выявлено, что только около 50% детей контаминируются от матерей, инфицированных этим патогеном, а заболевает не более 2% из них [23, 55, 126]. Риск развития и исходы дыхательных нарушений у новорожденных во многом зависят не только от предрасполагающих, внешнесредовых факторов, но и генетической предрасположенности [26]. Поэтому изучение наследственного вклада в развитие дыхательных нарушений у глубоко недоношенных детей и реализацию инфекционно-воспалительной патологии является одним из научных приоритетов.

Многие гены вовлечены в процесс неонатальной легочной адаптации, а мутации некоторых генов являются причиной тяжелых респираторных заболеваний. При этом существуют аллели высокого риска легочной патологии и аллели, снижающие этот риск.

Достаточно изучены полиморфизмы сурфактантных белков. Так, гаплотипы SP-A (+ 186A / G) и SP-B (1580C / T), SP-A1 6A<sup>4</sup> и SP-A2 1A<sup>5</sup>, SP-A1 6A<sup>2</sup> и SP-A2 1A<sup>0</sup> тесно связаны с риском развития РДС у недоношенных детей [156, 223, 346]. Тогда как генотип AG полиморфизма A / G в положении 9306 гена SP-B, а также гаплотипы SP-A1 6A<sup>3</sup>, SP-A2 1A<sup>1</sup> и SP -A2 1A<sup>2</sup> являются защитным фактором в развитии РДС [156, 348]. Также, протективным является генотип Inv/330 минисателлитного локуса 4-го интрона гена сурфактантного белка В и генотип II инсерционно - делеционного полиморфизма гена АПФ. Маркером устойчивости к инфекционным осложнениям РДС является генотип CC локуса 32T > C гена сурфактантного белка D. Аллель D полиморфного локуса гена АПФ является маркером предрасположенности новорожденных к дыхательным расстройствам [25, 26].

Не только полиморфизм генов сурфактантных белков играет роль в развитии респираторной патологии при рождении. Наличие генотипа \*1A\*2A и аллелем \*2A полиморфного локуса 3801T>C гена *CYP1A1* (ген цитохрома P450)

увеличивает риск развития респираторных нарушений у мальчиков при рождении практически в 2 раза [26].

Большое количество исследований посвящено генетической предрасположенности формирования бронхолегочной дисплазии [11, 24, 342]

Исследования последних лет показали причастность генетических факторов и к реализации врожденной инфекции. Так, наличие генотипа А/А полиморфизма гена *IL10*: -592 А > С у новорожденных ассоциировано с увеличением риска реализации внутриутробной инфекции при задержке роста плода и хронической гипоксии во время беременности [62]. Предрасположенность к инфекционным осложнениям РДС маркируется аллелью А локуса -627 С>А гена ИЛ 10 [25]. Полиморфизмы генов *toll-подобных рецепторов* (*TLR2* (rs3804100, rs1898830), *TLR4* (rs4986791) и *TLR9* (rs352140)) и *маннозосвязывающего лектина* оказывают влияние на реализацию врожденной ЦМВ-инфекции у детей [246].

В исследовании Esposito S. с соавт. (2014) было выявлено, что генетическая предрасположенность играет роль при сепсисе у недоношенных новорожденных, влияя на восприимчивость и тяжесть заболевания, а также на риск заболевания в результате специфических патогенов. Генотипы СТ и ТТ rs1143643 (ген *IL1β*) и генотип GG rs2664349GG (ген *MMP-16*) были связаны со значительно повышенным общим риском развития сепсиса ( $p=0,03$ ,  $p=0,05$  и  $p=0,03$ ), тогда как генотип AG rs4358188 (ген *BPI*) и КТ rs1799946 (ген *DEFβ1*) были связаны со значительно сниженным риском развития сепсиса ( $p=0,05$  для обоих). Среди пациентов с бактериологически подтвержденным сепсисом только генотип GG rs2664349 (ген *MMP-16*) показал значительную связь с повышенным риском его развития ( $p = 0,02$ ). Генотипы GG rs2569190 (ген *CD14*) и АТ rs4073 (ген *IL - 8*) были связаны со значительно повышенным риском развития тяжелого сепсиса ( $p=0,05$  и  $p=0,01$ ). Генотип AG rs1800629 (ген *LTA*) и генотипы СС и СТ rs1341023 (ген *BPI*) были связаны со значительно повышенным риском развития грамотрицательного сепсиса [222].

Тяжелое течение врожденной пневмонии у новорожденных ассоциировано с полиморфизмом генов *NOS3* (синтез эндогенного оксида азота), *AGTR1*

(рецептор 1-ого типа к ангиотензину II), *TLR9* (толл-подобный рецептор 9-мембранный белок, входящий в группу толл-подобных рецепторов, обеспечивающих функционирование врожденного иммунитета) и *DRD4* (подтип D4 рецептора допамина) [18]. У новорожденных различного гестационного возраста с развитием инфекционно-воспалительных заболеваний ассоциированы разные генетические полиморфизмы, что, по-видимому, отражает процесс созревания иммунной системы: на сроке 29-32 недели – NOS3: -786 T>C, NOS3: 894 G>T, IL1b: -31 T>C, на сроке 33–36 нед – AGTR2: 1675 G>A, IL8: -251 A>T, GNB: 825 C>T, HTR1A: -1019(1016) C>G, на сроке 37 недель гестации и более –ADD1: 1378 G>T, ADRB3: T>C [28]. Присутствие варианта аллеля T в общем SNP (rs352140) в гене *TLR9* связано с развитием инфекционно-воспалительного процесса у новорожденных [143].

Обнаружены маркеры предрасположенности к развитию врожденной пневмонии у больных РДС новорожденных: аллель \*A1 и генотип A1A1 VNTR локуса гена *IL1RN* [92].

Были получены данные о том, что у новорожденных с генотипом Thr/Met полиморфного локуса Thr11Met гена SFTPD риск развития инфекционных осложнений возрастает практически в 3 раза. Генотип Thr/Thr того же локуса, вероятно, является маркером устойчивости и снижает риск осложнений в виде пневмонии более чем в 6 раз. Гаплотип 11Met/160Thr ассоциирован с пониженным риском развития дыхательных нарушений более чем в 1,5 раза. Делеционный аллель 240 полиморфного локуса VNTR интрона 4 гена SFTPB встречался чаще в группе больных с летальным исходом [86].

Также существуют маркеры устойчивости к инфекционным осложнениям у детей с РДС. Так, например, генотип CC локуса 32T > C гена сурфактантного белка D [25].

### **Гены главного комплекса гистосовместимости**

Учитывая, что развитие пневмонии связано с функционированием иммунной системы человека и системой элиминации различных токсинов экзогенного и эндогенного происхождения, интересен вклад генов, кодирующих человеческие лейкоцитарные антигены (главный комплекс гистосовместимости у людей – HLA) и гены системы детоксикации.

Открытие главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex или МНС) явилось важнейшим достижением биологии и медицины 20 века. МНС является системой, обуславливающей биологическую индивидуальность, устойчивость или предрасположенность к тем или иным заболеваниям. Эта система представлена на лейкоцитах человека и была названа HLA (Human Leukocyte Antigen) [10, 132].

Главный комплекс гистосовместимости человека (МНС), известный как комплекс антигенов лейкоцитов человека (HLA), представляет собой особую группу молекул, экспрессируемых на поверхности клетки, которая имеет решающее значение для распознавания чужеродных молекул иммунной системой. Следовательно, основная функция молекул HLA состоит в том, чтобы связывать и выводить антигены, полученные из патогенов, на клеточную поверхность, чтобы представить их соответствующим Т-лимфоцитам. С генетической точки зрения HLA представляет собой кластер из более чем 200 генов расположен на хромосоме 6 (6p21.3) [165]. В настоящее время карта генов расширенного главного комплекса гистосовместимости (хМНС) включает уже 421 локус (исключая гены РНК) с длиной последовательности 7,6 Мб - расширяя предыдущую карту генов классической МНС, которая была длиной 3,6 Мб и содержала 224 локуса.

Главный комплекс совместимости состоит из трех классов: HLA класса I, HLA класса II и HLA класса III.

Между молекулами первых двух классов имеются выраженные структурные различия, но при этом по общему плану строения все они однотипны. В то же время между продуктами генов класса III, с одной стороны, и



классов I и II, с другой стороны, не найдено никакого функционального или структурного сходства.

Область класса I содержит классические гены класса I, такие как HLA-A, -B и -C, и неклассические гены, включая HLA-E, -F, -G, -J, -X, MICA, MICB, MICC, MICD и MICE. Антигены HLA класса I состоят из трех доменов  $\alpha$ -цепи:  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  и  $\alpha 3$ . Домен  $\alpha 3$  является трансмембранным, прикрепляя молекулы к клеточной мембране, тогда как центральная область обоих доменов  $\alpha 1$  и  $\alpha 2$  при взаимодействии между собой образует дно пептидсвязывающей полости (бороздки). При взаимодействии с антигеном, образовавшийся комплекс антигена с альфа1- и альфа2-доменами и определяет его иммуногенность и возможность взаимодействовать с антигенраспознающими рецепторами Т-клеток. Т.е., основное свойство молекул I класса – связывание пептидов (антигенов) и представление их в иммуногенной форме для Т-клеток. Антигены класса I присутствуют на поверхности всех ядродержащих клеток и тромбоцитов.

Гены HLA класса II состоят из двух цепей – тяжелой альфа и легкой бета, обе из которых образованы двумя доменами:  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  и  $\beta 2$ . Трансмембранный домен  $\alpha 2$  и  $\beta 2$ , соответственно, закрепляет молекулу HLA класса II на клеточной мембране, в то время как пептидсвязывающая полость (бороздка) образована гетеродимером  $\alpha 1$  и  $\beta 1$ . Наиболее хорошо охарактеризованы из этих генов - HLA-*DPB1*, -*DQA1*, -*DQB1* и -*DRB1*. Известны более 400 аллельных вариантов *DRB1*, 25 аллельных вариантов *DQA1*, 57 аллельных вариантов *DQB1*. Важнейшая функция антигенов HLA класса II – обеспечение взаимодействия между Т-лимфоцитами и макрофагами в процессе иммунного ответа. Т-хелперы распознают чужеродный антиген лишь после его переработки макрофагами, соединения с антигенами HLA класса II и появления этого комплекса на поверхности макрофага. Взаимодействие антиген-презентирующей клетки с Т-хелпером происходит при помощи корецептора CD4+, что ведет к формированию популяции Th1- и Th2-клеток, одни из которых индуцируют развитие гуморального иммунного ответа, а другие являются необходимым компонентом в индукции Т-киллеров. Антигены класса II присутствуют на поверхности В-

лимфоцитов, активированных Т-лимфоцитов, моноцитов, макрофагов и дендритных клеток.

Исследование экспрессии молекул I и II классов МНС на различных типах клеток выявило более широкое тканевое распределение молекул I класса в сравнении с молекулами II класса. Если молекулы I класса определяются практически на всех изученных клетках, то молекулы II класса экспрессируются, в основном, на иммунокомпетентных клетках или клетках, принимающих относительно неспецифическое участие в формировании иммунного ответа, таких, как клетки эпителия.

Более чем 20 генов области HLA класса III являются функционально обособленными и кодируют белки, которые отличаются по структуре и функции от локусов класса I и класса II, включая компоненты комплемента, некоторые воспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) или белки теплового шока. И в отличие от молекул МНС класса I и класса II не участвуют в контроле иммунного ответа.

Термин МНС класса IV употребляется для описания некоторых локусов, сцепленных с МНС [66, 87, 221, 282].

Одновременная экспрессия молекул HLA с обеих молекул ДНК, их полигенность, полиаллелизм создает широкую индивидуальную вариабельность по вышеуказанным группам генов и, как следствие, уникальности антигенного состава комплекса HLA [53].

Следует подчеркнуть, что система HLA не только одна из наиболее полиморфных генных систем, но является и наиболее полифункциональной. В многочисленных исследованиях показана роль системы HLA в контроле иммунного ответа, идентификации и презентации антигенов, регуляции взаимодействия иммунокомпетентных клеток организма, содержания и синтеза стероидных гормонов и цАМФ. Нарушение данных функций приводит к развитию ряда заболеваний. К болезням, известным как HLA-ассоциированные, относятся преимущественно аутоиммунные болезни, инфекционно-воспалительная патология и злокачественные новообразования. Важно понимать,

что популяционные исследования полиморфизма системы HLA позволили установить, что связь заболеваний с различными аллельными вариантами генов HLA помимо межрасовых и межэтнических различий имеет и внутриэтнические различия [118].

В многочисленных исследованиях показана связь полиморфизма генов HLA II класса с риском развития различных заболеваний органов дыхания (инфекционных, хронических обструктивных, онкопатологии и т.д.)

Учитывая функции HLA II класса, опубликовано довольно много работ, посвященных поиску ассоциативных связей генов этой системы с ОРВИ. Показано, что молекулярно-генетическими предикторами заболеваемости ОРВИ у рабочих нефтегазопромыслов является HLA-DR1 [58]. Исследования, проведенные у беременных женщин, показали, что носительство генов HLA *DRB1\*01\*04*, *DRB1\*07\*08*, *DRB1\*11\*13* выполняет протекторную роль в отношении гриппа A(H1N1) pdm2009. А присутствие в фенотипе у беременных женщин *DRB1\*07\*15* ассоциировано с тяжелым течением гриппа [125].

В последние годы важным является изучение связи полиморфизмов HLA II класса с развитием острых респираторных вирусных инфекций, сопровождающихся развитием тяжелого острого респираторного синдрома. Эти генетические данные могут критически влиять как на изучение патогенеза атипичной пневмонии, так и на разработку программ вакцинации.

Выявлены полиморфизмы HLA II класса, которые играют роль в восприимчивости, резистентности и исходах SARS – инфекции. Так, исследование, проведенное в Китае, показало, что наличие аллеля *DR\*0301* ассоциировано с устойчивостью к SARS – инфекции [250]. Механизм протективного действия этого аллеля можно рассматривать с двух точек зрения: 1 – в отношении контроля вирусной пролиферации и персистенции и 2 – участие в аутоиммунном патогенезе. Вероятно, *DQB1\*0301* обеспечивает защитный эффект за счет взаимодействия с хелперными клетками CD4+ [213].

При типировании HLA класса II у саудовских пациентов с тяжелой инфекцией MERS-CoV (Ближневосточный респираторный синдром), являющийся

заболеванием нижних дыхательных путей и характеризующийся высокой смертностью, было выявлено, что что HLA-*DRB1* \* 11: 01 и *DQB1* \* 02: 02 могут быть связаны с восприимчивостью к MERS [159].

Метаанализ, включающий 12 исследований с *DQB1* (1290 пациентов с туберкулезом и 1471 контрольной группой) и 6 исследований с *DQA1* (453 пациента с туберкулезом и 648 контрольных пациентов), показал, что только *DQB1*\*0601 имеет значительную связь с повышенным риском развития туберкулеза. Никакой существенной связи с риском туберкулеза не было обнаружено ни в одном аллеле HLA-*DQA1* или в других аллелях HLA-*DQB1*. При этом, *DQB1*\*0601 был в значительной степени связан с повышенным риском развития туберкулеза в азиатской группе, тогда как в неазиатской группе не было обнаружено никаких доказательств [367].

Аллели *DQB1* \* 07, - *DQ02* и -*DQ07* являются аллелями – протекторами в развитии немелкоклеточного рака легких. Аллель *DQB1* \* 07, кроме того, оказался важным протективным аллелем, препятствующим генерализации онкологического процесса при данной форме рака [149]. Выявлена связь развития аденокарциномы легких с аллелем *DQA1*\*0301. У пациентов с гистологически верифицированной аденокарциномой легких аллель *DQA1*\*0301 достоверно чаще встречался, чем в группе контроля [253]. Имеются сведения о причастности аллелей *DRB1* к эффективности химиотерапии онкобольных. Так, в группах частичной и полной эффективности химиотерапии экспрессия *DRB1*\*13 была чаще. А у пациентов со стабильным и прогрессирующим течением онкозаболевания, принимающих химиотерапию, чаще определялись аллели *DRB1*\*1 и *DRB1*\*3 [218].

Бронхиальная астма одно из самых частых хронических заболеваний бронхолегочной системы является и сопровождается обструкцией бронхов и их гиперреактивностью в результате IgE-опосредованного ответа на антигены внешней среды (атопия). Многочисленные исследования подтвердили существенный вклад генетических факторов в детерминацию уровня IgE и степень реактивности бронхов. Существуют негативные и положительные связи

различных генов с вышеперечисленными процессами [27]. Выявлены ассоциации *DRB1\*03*, *DRB1\*13*, *DQA1\*0104*, *DQB1\*0501*, *DQB1\*0603* с бронхиальной астмой, но геногеографическое распределение аллелей значительно различается.

Метаанализ 24 исследований показал, что *DRB1\*03* был положительно связан с риском развития бронхиальной астмы, а *DRB1\*15* был отрицательно связан с риском развития астмы, но никакой ассоциации не было обнаружено с другими аллелями HLA-*DRB1*. Анализ подгрупп по возрасту показал, что *DRB1\*03*, *DRB1\*04*, *DRB1\*09* и *DRB1\*15* ассоциированы с бронхиальной астмой у детей. Анализ подгрупп по этнической принадлежности показал, что *DRB1\*03* и *DRB1\*15* ассоциировались с астмой у белых, а *DRB1\*07* и *DRB1\*14*-с астмой у азиатов [158].

У астраханских и московских пробандов с бронхиальной астмой ассоциированы разные специфичности HLA-*DRB1* локуса. У больных бронхиальной астмой московского региона с астмой ассоциирована HLA-*DRB1\*07* специфичность [107].

В астраханской области устойчивость к формированию аллергической формы бронхиальной астмы ассоциирована с аллелями *DQB1\*0302*, *DQB1\*06* и гаплотипами *DRB1\*12/DQB1\*06*, *DRB1\*13/DQB1\*06*, *DRB1\*07/DQB1\*0201*. Специфичность *DRB1\*01* с одной стороны маркирует резистентность к развитию аллергического ринита, а с другой стороны - наличие ее в HLA-фенотипе больного аллергическим ринитом является маркером высокого риска присоединения аллергической формы бронхиальной астмы. Также, *DQB1\*06* с одной стороны маркирует резистентность к развитию аллергической формы бронхиальной астмы в «здоровой» популяции, а с другой – «препятствует» развитию бронхиальной астмы у больных с аллергическим ринитом [6].

Интерстициальная болезнь легких (ИБЛ) является одним из внесуставных проявлений ревматоидного артрита и ассоциирована с наличием *DRB1 \* 16*. С другой стороны, *HLA-DRB1 \* 04*, был связан со значительно сниженным риском развития ИБЛ [160].

Выявлена связь HLA-аллелей II класса с ХОБЛ. В исследовании Faner R (2013) показана связь аллелей HLA с тяжестью ХОБЛ. Так, наличие аллеля HLA - *DRB1\*14* может способствовать формированию тяжелой ХОБЛ с эмфиземой [241]. В русской популяции Среднего Поволжья у взрослых пациентов с обструктивными заболеваниями легких установлена выше частота присутствия *DRB1\*01*, *DRB1\*07* и *DRB1\*17*; для гена *DQB1* аллели *0201*, *0301*, *0501*; для гена *DQA1* аллели *0101*, *0102* и *0103* [14].

Изучение связи полиморфизма HLA II класса с риском формирования бронхиальной астмы проводились и у детей. В исследовании Knutsen H. с соавт (2010) была проведена оценка ассоциации HLA с тяжестью бронхиальной астмы у детей с аллергией на плесневые грибки (*Cladosporium* и *Aspergillus*), пыльцу деревьев и сорных трав. Выявлена сниженная частота HLA-*DQB1\*03* у обследованных детей с тяжелой формой астмы, по сравнению с детьми с легкой формой астмы [161].

Имеется ряд исследований посвященных вкладу аллелей HLA II класса в развитие БЛД [97, 242, 327]. Развитие данного заболевания у преждевременно родившихся детей зависит от различных предрасполагающих факторов. Но, у младенцев группы риска не во всех случаях формируется данная патология. HLA-фенотип ребенка также может предрасполагать к БЛД. D. A. Clark *et al.* первыми провели исследование, посвященное изучению причастности антигенов системы HLA у новорожденных с хроническим повреждением легких и показали, что дети с геном HLA-A2 чаще формировали бронхолегочную дисплазию [242]. В других исследованиях показано, что наибольший риск формирования БЛД имеют дети с HLA A28, B22, а наименьший – с антигенами B16, B18 и DR11 [97]. Rocha G. в 2011 году установил ассоциацию формирования БЛД с аллелями системы HLA (*A 68*, *B 51*, *CW 14*, *CW 15*, *DRB1 01*) [327].

Учитывая, что молекулы HLA II класса экспрессируются на поверхности макрофагов (в том числе альвеолярных), эпителиальных клетках, можно предположить, что они могут быть генами – кандидатами развития врожденной

пневмонии у недоношенных новорожденных. Таких исследований у этой категории пациентов не проводилось.

### **Гены II фазы системы детоксикации**

В результате инфекционного процесса, с одной стороны, в организме образуется большое количество эндогенных токсинов. С другой стороны, в организм поступают медикаменты, которые используются для лечения, и по своей сути являются ксенобиотиками (экзогенными токсинами). И эндогенные, и экзогенные токсины должны быть элиминированы. В их метаболизме у человека принимают участие около 30 систем ферментов. К экзогенным токсинам относят ксенобиотики, которые являются химическими соединениями, чужеродными для организма. Многие исследования показывают, что реакция на ксенобиотики, включая реакцию на прием лекарственных препаратов, индивидуальны. Ксенобиотики по-разному взаимодействуют с протеинами и нуклеиновыми кислотами. Поэтому различные индивидумы, в зависимости от особенностей генома, могут показывать повышенную чувствительность к лекарственным препаратам и повреждающим агентам или сохранять устойчивость к ним [90].

Выделяют три последовательные фазы в метаболизме токсинов (как экзогенных, так и эндогенных): I фаза – активации – в результате биохимических реакций ксенобиотики трансформируются из липофильных в гидрофильные соединения. Во II фазе – нейтрализации – на активированные продукты I фазы переносятся ацетильные, метильные, сульфгидрильные группы или глутатион, в результате чего образуются гидрофильные конъюгаты. В III фазе происходит элиминация продуктов детоксикации легкими, кишечником и почками. Важной особенностью системы детоксикации является синхронность работы всех фаз и их взаимозависимость.

Ферменты глутатион-S-трансферазы (GST) составляют главное суперсемейство II фазы, которое играет ключевую роль в клеточной детоксикации и других биологических процессах. Исследования GST показали, что генетические полиморфизмы присутствуют в этих ферментах и что

некоторые из них представляют собой варианты с потерей функции, которые влияют на ферментативные функции и связаны с различными аспектами здоровья человека [224].

*GST* обеспечивают детоксикацию организма за счет разных механизмов: некаталитическое связывание некоторых ксенобиотиков, каталитическая инактивация ксенобиотиков через конъюгацию с глутатионом, восстановление липид- и ДНК-гидропероксидов через экспрессию активности *GSH*-пероксидазы [103, 230].

Ферменты *GST* принадлежат к разным классам и имеют различную структуру. Выделяют три семейства *GST*, а именно: цитозольные, митохондриальные и микросомальные. Помимо детоксикации электрофильных ксенобиотиков (химических канцерогенов, загрязнителей окружающей среды, противоопухолевых агентов), эти трансферазы инактивируют эндогенные токсины ( $\alpha$ ,  $\beta$ -ненасыщенные альдегиды, хиноны, эпоксиды и гидропероксиды, образующиеся в качестве вторичных метаболитов во время окислительного стресса). Эти ферменты также принимают непосредственное участие в биосинтезе лейкотриенов, простагландинов, тестостерона и прогестерона, гема и билирубина, а также в деградации тирозина. Особого внимания заслуживают цитозольные глутатионтрансферазы, которые у человека проявляют генетические полиморфизмы и их вариации могут увеличивать восприимчивость человека к канцерогенезу, воспалительным заболеваниям различных органов и систем и другим заболеваниям [170, 237, 238].

Среди цитозольных глутатион-S-трансфераз выделяют семь классов: альфа (*GSTA*), мю (*GSTM*), пи (*GSTP*), тета (*GSTT*), дзета (*GSTZ*), сигма (*GSTS*) и омега (*GSTO*). Эти *GST* являются центральной частью молекулярной детоксикации легких, но три из этих генов: *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTT2B*, расположены в областях генома, восприимчивых к изменениям числа копий, что приводит к частой делеции генов с различной частотой в разных популяциях. *GSTM1* и *GSTT1* значительно экспрессируются как в эпителии дыхательных путей, так и в альвеолярных макрофагах, тогда как *GSTT2B* экспрессируется только в



альвеолярных макрофагах. Поэтому полиморфизмы генов *GSTM1* и *GSTT1* связаны с патологией легких [129, 226].

Представители класса мю (*GSTM1*) и тета (*GSTT1*) семейства мультигенов глутатион-S-трансферазы являются кандидатами в гены предрасположенности к раку из-за их способности регулировать конъюгацию канцерогенных соединений в экскретируемые гидрофильные метаболиты. Люди, являющиеся носителями гомозиготных делеций *GSTM1* и *GSTT1*, могут иметь нарушенную способность метаболически удалять канцерогенные соединения и, следовательно, могут подвергаться повышенному риску рака. Молекулярно-эпидемиологические исследования показали взаимосвязь нулевых вариантов *GSTM1* и *GSTT1* с предрасположенностью к раку. Однако, частота носителей гомозиготных делеций *GSTM1* и *GSTT1* очень высока (до 20–50%) в большинстве популяций, изученных до настоящего времени. Шанс развития рака невелик в этих популяциях (менее 2), но величина риска выше (например, отношение шансов 3–5), когда рассматриваются взаимодействия нулевых вариантов *GSTM1* и *GSTT1* с другими факторами (например, курение сигарет) [316]. Курение приводит к огромной ксенобиотической нагрузке на эпителий дыхательных путей и альвеолярные макрофаги. Эти клетки экспрессируют глутатион-S-трансферазу, которые пытаются биотрансформировать ксенобиотики в безвредные химические вещества [229]. У 10–20% курильщиков развивается хроническая обструктивная болезнь легких и рак легких, при этом генетическая предрасположенность может играть важную роль. Исследования подтверждают роль нулевого генотипа *GSTM1* и *GSTT1* в формировании ХОБЛ и рака легких у курильщиков [233, 234].

В некоторых исследованиях показана роль генетического полиморфизма *GSTM1* и *GSTT1* в развитии рака легких независимо от курения [227]. А в исследовании Pan C. с соавт было выявлено, что после стратифицирования по половому признаку, нулевой генотип *GSTT1* приводил к повышенному риску развития рака легких среди мужчин, тогда как нулевой генотип *GSTM1* привел к повышенному риску развития рака легких среди женщин [228].

К развитию воспаления в дыхательной системе причастны некоторые полиморфизмы генов системы детоксикации. Так, у взрослых пациентов с внебольничной пневмонией с генотипом *GSTT1* +/+ *GSTM1* 0/0 чаще возникают осложнения [29].

Бронхиальная астма – хроническое заболевание, которое характеризуется повышенным окислительным стрессом. При бронхиальной астме у взрослых пациентов содержание глутатион-S-трансфераз в плазме крови повышена [322]. Окислительная нагрузка еще больше увеличивается во время приступа астмы и это может указывать на неадекватность антиоксидантных свойств пациента. И это может быть связано с наличием нулевых вариантов *GSTM1* и *GSTT1*. В исследовании Ивашенко Т.Е. с соавт. показано, что у взрослых пациентов выявлено, что наличие нулевого аллеля *GSTM1* в 3,5 раза, а нулевого аллеля *GSTT1* в 4 раза повышает риск развития бронхиальной астмой [264]. Также у взрослых пациентов выявлены ассоциации между нулевым вариантом *GSTT1* и приступами астмы и нулевым вариантом *GSTM1* и тяжестью астмы. Однако, проведенные такие же исследования у детей не выявили этих связей. Возможно это связано с тем, что другие факторы, кроме GST, могут быть более важными для антиоксидантных свойств легких при развитии бронхиальной астмы [378]. Но, возможно наличие нулевых вариантов этих глутатион-S-трансфераз у детей с бронхиальной астмой, будет иметь значение в будущем в совокупности с другими факторами внешней среды, например, такими как пассивное курение, воздействие загрязненного воздуха, связанного с дорожным движением и т.д. [225, 374].

При исследовании полиморфизма генов II фазы системы детоксикации у недоношенных детей китайской популяции было выявлено, что наличие нулевых генотипов *GSTM1* и *GSTT1* могут быть значимым фактором риска формирования БЛД [232].

Однако, положительная связь между генетическим полиморфизмом и развитием заболеваний не может быть экстраполирована из одной этнической группы в другую на основании различий внутри- и межэтнических аллелей и частот генотипов [157] и требует дополнительного изучения.

Последние данные молекулярных генетиков по дыхательным расстройствам инфекционного генеза у глубоконедоношенных детей единичны, поэтому данное направление вызывает очень большой интерес. Кроме того, поиск генов-кандидатов неблагоприятного исхода у глубоконедоношенных детей приобретает особую значимость для оптимизации лечебно-диагностического процесса.

### **1.6 КАТАМНЕСТИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ЗА ДЕТЬМИ, РОДИВШИМИСЯ ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫМИ**

В связи с выраженной морфофункциональной незрелостью, все глубоко недоношенные дети в первые 28 дней жизни имеют патологические состояния различных органов и систем, многие из которых сохраняются вплоть до выписки из стационара [17, 114, 274, 361]. После выписки из стационара патологические изменения со стороны дыхательной системы, ЦНС, ретинопатия, тугоухость, нарушения фосфорно-кальциевого обмена, слабость мышечного каркаса, проблемы желудочно-кишечного тракта сохраняются длительно [67, 98, 361]. При этом имеется высокий риск развития неблагоприятных исходов (включая инвалидность), что может привести к снижению качества жизни этих пациентов, а также их семей. Не смотря на то, что за последние годы имеется тренд к снижению частоты нарушений здоровья у данной категории пациентов, их ведение в постнатальном периоде требует специальных знаний и подходов [17, 39, 59, 73, 112].

Оценка здоровья (соматического, физического, нервно-психического) проводится с учетом скорректированного возраста, который равен биологическому возрасту ребенка за вычетом количества недель, на которые раньше срока он родился. Обычно, на первом году жизни, глубоко недоношенные дети имеют «догоняющий рост» во всех аспектах развития, что позитивно сказывается на здоровье детей в целом.

Подавляющее большинство опубликованных работ, как российских, так и зарубежных исследователей, посвящены неврологическим исходам, в том числе очень отдаленным, у глубоко недоношенных детей [65, 313]. Связано это с тем,

что данная категория детей находится в группе высокого риска развития неблагоприятных исходов по психомоторному и когнитивному развитию, поскольку неврологические нарушения и их последствия у недоношенных детей могут вызывать пожизненные структурные и функциональные нарушения головного мозга. Повреждение мозга, при этом, сильно коррелирует с гестационным возрастом. Даже в связи с кардинальными изменениями в лечении и выхаживании недоношенных детей за последние два десятилетия (например, использование пренатальных стероидов, отказ от постнатальных стероидов, использование сурфактанта, неинвазивная вентиляция легких), частота нарушений развития нервной системы среди недоношенных детей остается высокой [332]. Тяжелые неврологические последствия, в виде грубой задержки моторного развития, детского церебрального паралича к году жизни диагностируются у 25% детей с ЭНМТ и 16% с ОНМТ [93]. По данным Kobaly K (2008), не смотря на изменение подходов к лечению и выхаживанию глубоко недоношенных детей, исходы развития нервной системы (индекс психического развития, индекс психомоторного развития) не улучшались по сравнению с более ранними периодами лечения таких пациентов, хотя частота нейросенсорных нарушений (например, глухота, слепота) уменьшилась. Кроме того, дети с БЛД продолжают иметь худшие когнитивные способности по сравнению с детьми без БЛД [299]. Исследования нейрокогнитивного исхода с участием нескольких когорт показывают, что к младшему школьному возрасту у детей, родившихся глубоко недоношенными, сохраняются более низкие оценки по всем когнитивным параметрам, включая снижение внимания, эмоциональные проблемы [65, 313]. Даже в когорте детей, имевших благоприятный исход неврологической патологии, показатели индекса психического развития были ниже уровня нормы. Только 17% из детей с благоприятным неврологическим исходом имеют нормальный индекс психического развития [183]. В подростковом и взрослом возрасте проблемы сохраняются и связаны с дефицитом «исполнительной функции», то есть умственной деятельности высокого уровня, которая коррелирует со способностью регулировать поведение и познание для

целенаправленной работы (например, словесное торможение, когнитивная гибкость) [215].

Несмотря на регресс клинических проявлений БЛД по мере роста ребенка, заканчивающееся чаще всего клиническим выздоровлением, у подавляющего большинства детей с данным диагнозом при отдаленном катамнестическом обследовании выявляются функциональные и рентгенологические изменения. Даже при клиническом благополучии, перенесенная БЛД приводит к стойким, в том числе необратимым, нарушениям вентиляционной функции легких, к ранней эмфизематозной перестройке с утратой эластичности легочной ткани, выявляемых при компьютерной томографии [43]. В длительных наблюдениях показано, что до 10% взрослых (с диагнозом БЛД в детстве) продолжают прием глюкокортикостероидов после перенесенной в раннем детском возрасте БЛД и обнаружена тенденция к усугублению функциональных нарушений в будущем [278]. Особого наблюдения требует тяжелая форма БЛД, сопровождающаяся развитием легочной гипертензии, поскольку только 5% детей с этой патологией доживают до двух-трех летнего возраста [300].

Частота офтальмологических осложнений (глаукома, высокая степень миопии) достигает 12% детей, перенесших ретинопатию [93]. Изменения со стороны органов зрения сохраняются до подросткового периода и далее во взрослом возрасте. Существенные различия были обнаружены между подростками, родившимися глубоко недоношенными и доношенными в отношении остроты зрения, стерео остроты, распространенности астигматизма, снижение полей зрения, нарушения контрастной чувствительности и дефицита кортикальной зрительной обработки, нарушения зрительно-моторной интеграции [363, 381].

За последние годы частота тугоухости, представленная чаще всего хронической сенсоневральной тугоухостью (ХСНТ) и слуховой нейропатией (СН), у глубоко недоношенных детей снизилась. Но слуховая функция недоношенных детей отличается нестабильностью и может претерпевать изменения с возрастом. В исследовании Савенко И.В (2018) показано, что из 186

человек у 14 (7,5%) имели место ее изменения, которые были представлены: у 3 детей нормализацией аудиологических данных к 12 и 24 мес; у 3 наблюдаемых – трансформацией ХСНТ в СН в возрасте 12, 14 и 18 мес; у 3 – преобразованием СН в ХСНТ в возрасте 12, 24 и 48 мес; у 5 – формированием отсроченной ХСНТ к возрасту 10, 15, 24, 28 и 36 месяцам фактической жизни. Таким образом, у глубоко недоношенных детей может наблюдаться как улучшение слуховой функции, обусловленное в основном процессами созревания в слуховой системе, так и ее ухудшение, а также отсроченное формирование тугоухости. Поэтому глубоко недоношенные дети после выписки из стационара должны находиться под динамическим аудиологическим наблюдением до достижения ими 3-4-летнего возраста [108, 239].

Очень частой проблемой на первом году жизни у глубоко недоношенных детей являются нарушения ЖКТ. Более чем у половины детей с ОНМТ и ЭНМТ выявляются срыгивания, запоры, колики. Грыжевые выпячивания (пахово-мошоночные, пупочные) диагностируются у 37% детей с ЭНМТ [9, 93].

В связи с тем, что активное поступление железа от матери к плоду осуществляется в последние 2 месяца беременности, недоношенность может привести к сокращению запасов железа в 1,5–3 раза по сравнению с доношенными и развитию поздней анемии недоношенных после выписки из стационара. Поздние анемии недоношенных различной степени тяжести встречаются в 2 раза чаще у глубоко недоношенных детей. При этом отмечаются трудности коррекции поздней анемии, которые связаны с выраженной морфофункциональной и ферментативной незрелостью младенцев с низким гестационным сроком. Однако адекватное наблюдение за такими пациентами, регулярный контроль общего анализа крови, своевременное применение мер профилактики и лечения позволяет свести к минимуму негативные последствия анемии и повысить качество выхаживания недоношенных детей [7, 113].

Наличие вышеперечисленных проблем у глубоко недоношенных детей при катамнестическом наблюдении свидетельствует о необходимости тщательного динамического контроля на протяжении всего периода детства. При этом важен

комплексный подход. Однако в имеющейся литературе чаще всего представлены статьи, касающиеся какой-либо одной патологии. Только единичные работы посвящены комплексной оценке состояния здоровья детей на протяжении первых трех лет жизни.

В исследовании, выполненной Филькиной О.М. с соавт. (2010), показано, что к концу первого года жизни недоношенные дети разного гестационного возраста с массой тела при рождении менее 1500г, характеризуются большей частотой и комплексностью соматической патологии и инвалидности. У детей с экстремально низкой массой тела при рождении инвалидность наступала в 1,7 раза чаще, чем у детей с очень низкой массой тела, и более чем в 5 раз чаще, чем у доношенных детей [36].

В исследовании Уфимцевой Л.А. с соавт (2003) была попытка комплексного анализа здоровья детей, перенесших ИВЛ в неонатальном периоде. Подавляющее большинство обследованных детей были недоношенными. Исследование показало: на первом году жизни ведущей патологией является перинатальное поражение ЦНС, далее следует ОРВИ; в последующие годы доминируют острые заболевания дыхательных путей, однако на 2-м месте находятся заболевания нервной системы (исходы перинатальной церебральной патологии), на 3-м месте – болезни верхних и нижних дыхательных путей, на 4-м – инфекционные заболевания ЖКТ и паразитозы, на 5-м месте – заболевания мочевыводящей системы. Резистентность детей к острым заболеваниям повышается с возрастом и зависит от посещения дошкольного учреждения [37].

Таким образом, комплексная оценка состояния здоровья с анализом групп здоровья к 3-летнему возрасту у детей, родившихся глубоко недоношенными, представляет интерес.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 ОРГАНИЗАЦИЯ И ОБЪЕМ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена на базе ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – доктор медицинских наук, профессор А. И. Малышкина).

Включение пациентов в исследование проводилась с учетом гестационного возраста и массы тела при рождении, наличия дыхательных нарушений при рождении и необходимости проведения респираторной поддержки.

Критерии включения в исследование:

- гестационный возраст менее 32 недель
- масса при рождении менее 1500 грамм
- наличие клинико-рентгенологических признаков дыхательных нарушений и необходимость проведения респираторной терапии в том или ином объеме.

Критерии исключения из исследования:

- гестационный возраст 32 недели и более
- масса тела при рождении более 1500 г.
- наличие у ребенка врожденных пороков развития.

Всего было обследовано 274 ребенка. В ходе исследования были выделены следующие клинические группы:

1 группа (основная) – 157 детей с клинико-лабораторными признаками врожденной пневмонии (P23);

2 группа (сравнения) – 117 детей без признаков врожденной пневмонии, но имевших на момент рождения дыхательные нарушения, обусловленные наличием респираторного дистресс синдрома (P22.0).

Диагноз врожденной пневмонии устанавливался при наличии одного основного (наличие инфильтративных теней на рентгенограмме легких в первые трое суток жизни) и трех (и более) вспомогательных диагностических признаков



(респираторные нарушения, проявления со стороны желудочно-кишечного тракта, изменения температуры тела, проявления сердечно-сосудистой недостаточности, изменения кожи и подкожной клетчатки, проявления почечной недостаточности, неврологическая симптоматика, лабораторные признаки инфекционного процесса, эпизоды интолерантности к глюкозе и др. [21, 68, 134].

От матерей всех обследованных детей было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «ИвНИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России (протокол № 4 от 19.10.15).

На каждого ребенка заполнялась специально разработанная карта наблюдения, включающая данные анамнеза матери, результаты клинико-лабораторных и инструментальных методов обследования, диагноз, лечение, результаты молекулярно-генетического обследования и катamnестического наблюдения до 3-летнего возраста.

## **2.2 КЛИНИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Для анализа факторов риска развития преждевременных родов у матери и формирования респираторных нарушений у новорожденных проведен анализ материнского анамнеза (медико-социальный статус семьи, экстрагенитальные и гинекологические заболевания у матери, течение настоящей беременности и родов). Сведения получали путём опроса матери и выкопировки данных из обменной карты беременной и истории родов.

Все новорожденные обследованы согласно клиническим рекомендациям «Врожденная пневмония», «Ведение новорожденных с респираторным дистресс-синдромом», методическому письму «Интенсивная терапия и принципы выхаживания детей с ЭНМТ и ОНМТ».

Тяжесть асфиксии при рождении оценивали по шкале Апгар, тяжесть дыхательных нарушений – шкале Сильверман.

Оценка физического развития при рождении и на этапе стационара проводилась с помощью центильных таблиц Fenton.

Клиническое обследование детей проводили по общепринятой методике ежедневно во время их нахождения в стационаре вплоть до выписки – отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных (заведующий отделением врач высшей категории С.Э. Филиппов), отделение выхаживания недоношенных детей II этапа стационара клиники (заведующая отделением, д.м.н., проф., заведующая отделом неонатологии и клинической неврологии детского возраста, профессор кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии Т.В. Чаша). Обследование включало в себя общий медицинский осмотр, аппаратный мониторинг SpO<sub>2</sub>, ЭКГ, неинвазивное измерение артериального давления осциллометрическим методом, термометрия и респираторный мониторинг (графический мониторинг, оценка MAP/CPAP, FiO<sub>2</sub>, Vte), контроль массы тела в динамике и суточного диуреза. Оценку кислотно-основного состояния и газового состава крови осуществляли посредством забора венозных и капиллярных проб и их анализа в автоматическом анализаторе *RAPIDLab 348* компании *Siemens Healthcare Diagnostics®*.

Всем новорожденным проводили стандартное лабораторно-инструментальное обследование, включающее в себя общеклинические анализы крови и мочи, биохимические показатели (определение содержания общего белка, мочевины, креатинина, глюкозы, билирубина, электролитного состава плазмы крови, аспарагиновой и аланиновой трансаминаз, щелочной фосфатазы, С-реактивного белка, прокальцитонина), исследование системы гемостаза (тромбоэластограмма, гемостазиограмма), исследование крови на маркеры внутриутробных инфекций методом иммуноферментного анализа с определением уровня специфических иммуноглобулинов М и G, рентгенологическое исследование органов грудной клетки и брюшной полости, регистрация электрокардиограммы, ультразвуковые обследования (головного мозга, сердца, органов брюшной полости, забрюшинного пространства), по показаниям выполняли амплитудно-интегрированную электроэнцефалографию (аЭЭГ).

Проводили бактериологическое обследование, в том числе микробного спектра трахеального аспирата с определением чувствительности выделенной флоры к антибактериальным препаратам и ПЦР-диагностику. Для детекции вирусов использовали метод ПЦР.

Наблюдение проводили до выписки из стационара. После выписки из стационара пациентов, включенных в исследование, наблюдали в кабинете катамнеза ФГБУ Ив НИИ МиД до возраста 3-х лет. Оценку физического развития проводили с помощью центильных таблиц [100]. Осмотры на первом году жизни проводили через 1 месяц после выписки из отделения выхаживания недоношенных детей II этапа стационара клиники, затем через каждые 3 месяца, на втором году жизни – 1 раз в 3 месяца, на третьем году жизни – 1 раз в полгода. Кратность могла быть чаще, т.к. зависела от состояния здоровья ребенка (физического, нервно-психического развития, неврологического и соматического). Все дети были консультированы педиатром и неврологом, другими специалистами (офтальмологом, аллергологом-иммунологом, оториноларингологом, генетиком) – по показаниям. Функциональные исследования (НСГ, электроэнцефалография, эхокардиография) и лабораторные (общий и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, коагулограмма и др.) проводили при необходимости. В результате полученных данных определяли дальнейшую тактику ведения ребенка в амбулаторных условиях, а также определяли необходимость госпитализации в профильные отделения детских клиник. Состояние здоровья детей в возрасте 3-х лет оценивали в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 10 августа 2017 г. № 514н "О Порядке проведения профилактических медицинских осмотров несовершеннолетних" [70, 100].

### **2.3 ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследования проводили в лаборатории клинической биохимии и генетики (руководитель – доктор медицинских наук, профессор Назаров С.Б.) ФГБУ

«Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава России.

Материалом для исследования служили периферическая венозная кровь, фарингеальный аспират и бронхоальвеолярная лаважная жидкость (БАЛЖ).

Забор крови осуществляли из периферических вен в объеме 0,5–0,8 мл. Для определения сурфактантного протеина Д и белка клеток Клара забор крови осуществляли за 1,5–2 часа до кормления ребенка на 3-й день жизни, а также повторно в возрасте 1 месяца. Для определения КЦ LL37 забор крови осуществляли в первые часы жизни ребенка, а также повторно в возрасте 1 месяца.

Фарингеальный аспират (с целью определения содержания КЦ LL37) забирали на 1–2-й день жизни. Стерильный аспирационный катетер соответствующего размера, соединенный через трубку-переходник с вакуумным отсосом, вводили в полость рта ребенка до рото- и гортаноглотки. Собранный фарингеальный аспират переносили в пробирку с пробкой. Образцы, загрязненные кровью или молоком, исключали. Правильно собранный аспират представлял собой вязкую, слегка пенящуюся жидкую массу серебристо-белого цвета. После определения точного объема аспират разводили 9 объемами 0,9%-го NaCl до получения однородности. Далее аспират центрифугировали в течение 20 минут при 3000 оборотах в минуту на клеточную фракцию и надосадочную жидкость [101]. Осложнения и другие нежелательные последствия забора фарингеального аспирата выявлены не были.

Бронхоальвеолярную лаважную жидкость (с целью определения СП-D и БКК) собирали однократно на 3-й день жизни у детей, находившихся на традиционной ИВЛ. В методике забора БАЛЖ учитывали рекомендации Европейского респираторного общества, а также работы отечественных авторов [130, 133, 164]. Сбор материала выполняли во время рутинной санации эндотрахеальной трубки катетером соответствующего размера. Фракционно в легкие вводили лаважную жидкость (0,5 мл/кг 0,9%-го NaCl) с последующим отсасыванием и сбором БАЛЖ в стерильную пластиковую посуду. При

проведении процедуры выполняли поворот головы ребенка в сторону лаважа и перкуссионный массаж грудной клетки. Всего процедуру забора повторяли по 2–3 раза с каждой стороны. Осложнений и других нежелательных последствий забора БАЛЖ не было.

Определение содержания КЦ LL37 в надосадочной жидкости, полученной после центрифугирования фарингеального аспирата, а также в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов фирмы «Hycult Biotech» (Нидерланды). Обработку результатов проводили на автоматическом ридере «EL 808» фирмы «BIO-TEK INSTRUMENTS» (США). Результат выражали в нг/мл.

Содержание секреторной фосфолипазы A2 (человека, тип IIa) (sPLA2) определяли в надосадочной жидкости, полученной после центрифугирования фарингеального аспирата, а также в сыворотке крови на 1 день жизни методом иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов фирмы «Cayman chemical» (США). Обработку результатов проводили на автоматическом ридере «EL 808» фирмы «BIO-TEK INSTRUMENTS» (США). Результат выражали в пг/мл.

Определение содержания СП-D и БКК в надосадочной жидкости, полученной после центрифугирования БАЛЖ (на лабораторной центрифуге при 3 000 об/мин в течение 15 мин), а также в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов фирмы «BioVendor» (Чехия). Обработку результатов проводили на автоматическом ридере «EL 808» фирмы «BIO-TEK INSTRUMENTS» (США). Результат выражали в нг/мл.

## **2.4 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ**

Молекулярно-генетическое исследование проводили на базе лаборатории клинической биохимии и генетики ФГБУ «ИвНИИ МиД им. В. Н. Городкова»

Минздрава России (руководитель группы генетики – старший научный сотрудник, д.м.н., врач-генетик И.Н. Фетисова).

Проведено исследование 103 образцов ДНК. Из них – 61 образец ДНК пациентов с врожденной пневмонией (1 группа), 42 образца ДНК новорожденных без врожденной пневмонии (2 группа). Объем выполненных молекулярно-генетических исследований представлен в Таблице 1.

Молекулярно – генетическое тестирование генов системы детоксикации проводили в соответствии с методическими рекомендациями МР 4.2.0075-13 «Перечень маркеров генного полиморфизма, отвечающих за особенности мутагенной активности техногенных химических факторов» [85].

Таблица 1 – Объем выполненных молекулярно-генетических исследований у глубококондоношенных новорожденных с ОНМТ и ЭНМТ

		I (n = 61)	II (n = 42)	Итого
1	<i>GSTM1</i>	61	42	103
2	<i>GSTT1</i>	61	42	103
3	<i>DRB1</i>	59	41	100
4	<i>DQA1</i>	60	41	101
5	<i>DQB1</i>	60	41	101
Итого:		301	207	508

Тестирование генов HLA II класса проводилось методом амплификации ДНК согласно рекомендациям фирмы «ДНК-технология» (Россия), приложенным к набору реагентов.

## 2.5 МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Морфологическое исследование проводили в лаборатории патоморфологии и электронной микроскопии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава России (руководитель – д.м.н., профессор Перетятко Л.П.), которое представляло собой исследование последов, включающее макроскопическую

оценку плацент с внеплацентарными оболочками и пупочным канатиком, органометрию (измерение массы и линейных параметров плацентарного диска) и обзорное гистологическое исследование.

После визуализации нефиксированного последа и освобождения его от плодных оболочек и пупочного канатика определяли наибольший и наименьший диаметры плацентарного диска (в см), используя металлическую линейку.

После купирования пуповины на высоте не более 0,5 см от места ее прикрепления определяли массу плаценты в граммах на электронных весах «Саша» и площадь ее материнской поверхности по отпечатку на миллиметровой бумаге с целью дальнейшего вычисления процента площади патологически измененных участков (кровоизлияния, инфаркты).

Иссечение кусочков ткани для обзорного гистологического исследования осуществляли в центральной, парацентральных, краевых и патологически измененных отделах плаценты, а также пуповине и внеплацентарных оболочках. Полученный материал фиксировали в 10%-ом нейтральном формалине и после стандартной парафиновой проводки из него на автоматическом микротоме «LOGOS» изготавливали гистологические срезы толщиной 4-5 мкм, которые затем окрашивали гематоксилином и эозином и исследовании при помощи светового микроскопа «Axiostar plus» (ZEISS) на увеличениях X100 и X400.

Обзорное гистологическое исследование проводилось в соответствии с методическими рекомендациями «Правила проведения патолого-анатомических исследований плаценты» [94], предусматривающими оценку зрелости ворсинчатого хориона, диагностику расстройств маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровообращения, а также оценку компенсаторных процессов и констатацию плацентарной недостаточности с уточнением формы и стадии таковой.

## **2.6 СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Статистическую обработку результатов исследования проводили по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов данных

на нормальность распределения. С помощью подсчета среднего арифметического и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ) выполнялось количественное описание величин с нормальным распределением. Если распределение отличалось от нормального, значения величин представлялись в виде медианы с указанием 25-го и 75-го перцентилей –  $Me [Q25\%; Q75\%]$ . Для выборок с нормальным распределением статистическая значимость различий между показателями оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента. Для независимых выборок оценка проводилась по критериям Манна – Уитни и Колмогорова – Смирнова. Для связанных групп использовали критерий Вилкоксона. Уровень  $p < 0,05$  расценивали как статистически значимый. Также применяли методы клинической эпидемиологии (расчет значений отношения шансов – ОШ (Odds Ratio (OR)), доверительного интервала (ДИ) при уровне значимости 95%). Для оценки дифференциально-диагностической значимости исследуемых показателей применяли ROC-анализ с помощью программы MedCalc v7.4.4.1. Результаты ROC-анализа оценивали по следующим параметрам: площадь под кривой AUC (area under ROC-curve), точность, чувствительность и специфичность. Значения AUC, согласно принятой шкале, расценивались следующим образом: AUC 0,9–1,0 – качество признака отличное; при 0,8–0,9 – очень хорошее; при 0,7–0,8 – хорошее; при 0,6–0,7 – среднее; от 0,5 до 0,6 – неудовлетворительное.

Корреляционный анализ проводили с помощью определения коэффициента корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

При проведении статистического анализа данных генетического обследования сравнение групп по качественным признакам проводили с использованием критерия  $\chi^2$  Пирсона или двустороннего точечного критерия Фишера. За качественный признак принимали наличие или отсутствие определенного аллеля, генотипа, гаплотипа или их сочетания в нескольких генах.

Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных лицензионных программ Statistica, версия 13,0 (Statsoft Ink, США), Microsoft Office 2007, GenStat, MedCalc и OpenEpi.



### **ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ, РОДИВШИХСЯ ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫМИ**

#### **3.1 ОСОБЕННОСТИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ, ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ И РОДОВ У МАТЕРЕЙ ОБСЛЕДОВАННЫХ ДЕТЕЙ**

У всех матерей обследованных детей проведен анализ соматической и гинекологической патологии, течения беременности и родов, результатов патоморфологического исследования плацент [76].

Возраст обследованных женщин варьировал в 1-ой группе от 17 до 43 лет, во 2-ой группе – от 17 до 44 лет. Средний возраст беременных, родивших детей с пневмонией, был достоверно выше, чем во 2 группе и составил 29 [25; 33] лет в 1 группе против 27 [23; 31] лет во 2 группе ( $p=0,01$ ).

Характеристика перенесенных заболеваний и экстрагенитальной патологии обследованных женщин представлена в Таблице 2.

Изучение патологии сердечно-сосудистой системы обследованных матерей показало, что наиболее частой патологией в обеих группах была хроническая артериальная гипертензия (ХАГ) (у 24(15,3%) и 14(11,9%) пациенток соответственно). У 2(1,2%) пациенток 1 группы имелся пролапс митрального клапана, не сопровождавшийся недостаточностью кровообращения. Варикозная болезнь вен нижних конечностей, вегетативно-сосудистая дистония по гипотоническому типу в обеих группах встречалась редко, без достоверной статистической разницы.

В структуре заболеваний мочевыделительной системы первое место по частоте в обеих группах занимал хронический пиелонефрит, далее – мочекаменная болезнь, инфекция мочевыводящих путей, гидронефроз без статистически значимых различий в группах.

Ожирение (индекс массы тела – более 30 кг/м<sup>2</sup>) было диагностировано у пациенток обеих групп практически с одинаковой частотой. Основная часть женщин страдала ожирением 1-й степени.

Таблица 2 – Характеристика перенесенных заболеваний и экстрагенитальной патологии матерей обследованных детей

Клинические данные	Группы обследованных матерей				Достоверность различий, р
	1 группа		2 группа		
	п	%	п	%	
Заболевания сердечно-сосудистой системы:					
Хроническая артериальная гипертензия	24	15,3	14	11,9	0,47
Врожденный порок сердца	1	0,6	2	1,7	0,29
Вегето-сосудистая дистония	15	9,6	8	6,8	0,40
Пролапс митрального клапана	2	1,2	-	-	0,27
Варикозная болезнь нижних конечностей	17	10,8	15	12,8	0,61
Заболевания мочевыделительной системы:					
Хронический пиелонефрит	18	11,5	10	8,5	0,42
Мочекаменная болезнь	5	3,2	4	3,4	1,0
Инфекция мочевыводящих путей	2	1,2	-	-	0,27
Гидронефроз	-	-	2	1,7	0,07
Заболевания органов пищеварения:					
Хронический гастрит	8	5,1	3	2,6	0,41
Цирроз печени	1	0,6	-	-	0,27
Панкреатит	-	-	1	0,9	0,23
Заболевания органов дыхания:					
Хронический бронхит	3	1,9	1	0,9	0,51
Бронхиальная астма	2	1,3	2	1,7	0,49
Другое:					
Диффузное увеличение щитовидной железы	8	5,1	5	4,3	0,69
Гиперандрогения	1	0,6	1	0,9	0,77
Сахарный диабет	2	1,3	2	1,7	0,49
Ожирение	15	9,6	8	6,8	0,38
Миопия	4	2,5	6	5,1	0,39

Болезни органов пищеварения встречались в единичных случаях и были представлены хроническим гастритом, циррозом печени, хроническим панкреатитом и статистически значимо в группах не различались.

Заболевания органов дыхания также отмечены у женщин в единичных случаях и представлены хроническим бронхитом и бронхиальной астмой. Около 5% пациенток обеих групп имели диффузное увеличение щитовидной железы, по 1 женщине в каждой группе имели гиперандрогению. Сахарный диабет I-го типа диагностирован у 2 (1,3% и 1,7%) пациенток каждой группы. Частота близорукости (миопии) также не имела статистически значимых различий между группами ( $p>0,05$ ).

Анализ акушерско-гинекологического анамнеза показал, что пациентки обеих групп имели высокую частоту гинекологической патологии, среди которой преобладали воспалительные заболевания нижнего отдела половых путей ( $p>0,05$ ) (Таблица 3).

Таблица 3 – Акушерско-гинекологический анамнез матерей обследованных детей

Клинические данные	Группы обследованных матерей				Достоверность различий, р
	1 группа		2 группа		
	п	%	п	%	
Гинекологические заболевания:					
Хронический аднексит	2	1,3	3	2,6	0,22
Неинвазивные заболевания шейки матки	8	5,1	6	5,1	1,0
Миома матки	5	3,2	-	-	0,06
Бесплодие	11	7,2	6	5,1	0,49
Прерывание беременности в анамнезе:					
Искусственное прерывание беременности	73	46,5	49	41,9	0,41
Выкидыши	28	17,8	22	18,8	0,83
Погибшая/внематочная беременность	14	8,9	8	6,8	0,54
Характеристика настоящей беременности:					
Первобеременные	25	15,9	40	34,2	0,0006
Повторнобеременные	132	84,1	77	65,8	0,0003
Первородящие	76	48,4	63	53,8	0,32
Повторнородящие	81	51,6	54	46,2	0,74
Беременность, наступившая в результате ЭКО	9	5,7	4	3,4	0,24

Таблица 4 – Особенности течения и структура осложнений настоящей беременности

Клинические данные	Группы обследованных матерей				Достоверность различий, р
	1 группа		2 группа		
	п	%	п	%	
Плацентарная недостаточность	69	43,9	53	45,3	0,74
Задержка развития плода	35	22,2	31	26,5	0,33
Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности	65	41,4	50	42,7	0,86
Вагинит при беременности	58	36,9	32	27,3	0,11
Угроза прерывания беременности в I триместре	26	16,6	25	21,4	0,28
Анемия беременных	45	28,7	33	28,2	1,0
ОРЗ при беременности	28	17,8	26	22,2	0,29
Гестационный пиелонефрит	1	0,6	3	2,6	0,17
Гестационный диабет	3	1,9	—	—	0,27
Маловодие	14	8,9	13	11,1	0,56
Многоводие	13	8,3	5	4,3	0,17
Истмико-цервикальная недостаточность	—	—	3	2,6	0,21
ВУИ	30	19,1	20	17,1	0,67
Выявленные инфекционные заболевания:					
ВПГ	3	1,9	3	2,6	0,69
ЦМВ	5	3,1	5	4,3	0,65
Токсоплазмоз	1	0,6	1	0,9	0,77
Сифилис	2	1,2	3	2,6	0,38
ВИЧ	1	0,6	—	—	0,40

Анализ течения беременности также показал, что у пациенток обеих групп почти в половине процентов случаев без достоверной разницы была диагностирована плацентарная недостаточность с нарушением маточно-

плацентарного и/или плодово-плацентарного кровотоков. Однако задержка роста плода значительно чаще развивалась во 2-ой группе ( $p=0,02$ ) (Таблица 4).

Практически у каждой второй женщины в обеих группах встречались отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности (код по МКБ-X: O10-O16), ( $p>0,05$ ).

Каждая третья женщина в обеих группах имела вагинит при беременности ( $p>0,05$ ).

Среди осложнений беременности в группах с одинаковой частотой встречались угроза прерывания беременности в I триместре, анемия беременных (диагностирована практически у каждой 4 женщины), маловодие и многоводие. В единичных случаях выявлен гестационный пиелонефрит и гестационный диабет.

Анализ течения родов представлен в Таблице 5.

Беременность завершилась преждевременными родами до 32 недель в обеих группах. В 29,9% в 1-ой группе и в 30,8% во 2-ой группе беременность осложнилась преждевременным разрывом плодных оболочек. Однако частота длительного безводного периода и его длительность в исследуемых группах статистически не различались.

Более чем в половине случаев роды были индуцированные и оперативные, основными причинами были тяжелая преэклампсия, ухудшение состояния плода и преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты.

Аntenатальная профилактика респираторного дистресс синдрома кортикостероидами в полном объеме была проведена у 101 (64,3%) и 65 (55,5%) матерей новорожденных 1-ой и 2-ой групп соответственно ( $p=0,94$ ). В подавляющем большинстве случаев антенатальная профилактика проводилась препаратом дексаметазон по общепринятой схеме. Основными причинами неполного курса антенатальной профилактики или её отсутствия были: прогрессирующая преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, тяжелая преэклампсия, родовая деятельность, ухудшение состояния плода.

Таблица 5 – Характеристика исходов беременности у матерей обследованных детей

Клинические данные	Группы обследованных матерей		Достоверность различий, р
	1 группа	2 группа	
Срок родоразрешения, недель гестации,	28 [27; 30]	30 [27; 30]	0,0003
Роды per vias naturals	46 (29,3%)	38 (32,5%)	0,47
Кесарево сечение	111 (70,7%)	79 (67,5%)	0,59
Роды спонтанные	75 (47,8%)	56 (47,8%)	1,0
Причины спонтанных родов			
Начавшаяся родовая деятельность	28 (17,8%)	20 (17,1%)	0,82
Излитие околоплодных вод	47 (29,9%)	36 (30,8%)	0,85
Роды индуцированные	82 (52,2%)	61 (52,1%)	1,0
Причины индуцированных родов:			
Тяжелая преэклампсия	33 (21,0%)	20 (17,1%)	0,40
Ухудшение состояния плода	21 (13,4%)	16 (13,9%)	0,81
ПОНРП	28 (17,8%)	25 (21,2%)	0,53
Длительный безводный период	41 (26,1%)	24 (20,5%)	0,33
Длительность безводного периода в часах.	73 [45; 170]	60 [42; 89]	0,40
Аntenатальная профилактика РДС плода:			
Не проведена	49 (31,2%)	36 (30,8%)	0,42
Проведена, из них:	108 (68,8%)	81 (69,2%)	0,94
Частичная	7 (6,5%)	16 (19,8%)	0,0031
Полная	101 (93,5%)	65 (80,2%)	0,004

Таким образом, анализ заболеваемости, течения беременности и родов у матерей обследованных детей не выявил значимых различий между группами, за исключением возраста матерей и паритета родов.

### 3.2. ОСОБЕННОСТИ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПОСЛЕДОВ

У всех матерей обследованных детей проведено морфологическое исследование последов, при анализе результатов которого выявлены следующие особенности структурной перестройки связующего звена функциональной системы «мать-плацента-плод».

У женщин исследуемых групп преобладали плаценты округлой и овальной форм с центральным и парацентральным отхождением умеренно извитого пупочного канатика без структурных эквивалентов нарушений пуповинного кровотока. Краевое прикрепление пуповины достоверно чаще определяли в группе детей без врожденной пневмонии – 8 (6,8%,  $p=0,04$ ). По 1 случаю в каждой из анализируемых групп (0,63% и 0,85% соответственно,  $p=0,52$ ) было выявлено оболочечное прикрепление пуповины.

Очаговая гипоплазия вартонова студня с преимущественной локализацией в зоне прикрепления пупочного канатика определялась около 5,1% случаев обеих групп, что явилось одной из причин нарушений пуповинного кровотока.

Органометрические параметры плацент соответствовали сроку гестации в обеих группах (116 (73,9%) и 85 (72,6%) случаях ( $p=0,85$ )). В остальных плацентах была диагностирована гипоплазия данного провизорного органа. Следует подчеркнуть, что в исследуемых группах преобладали тяжелые формы гипоплазии. Так, гипоплазия плацент I-ой степени была выявлена в 12 (7,6%) и 9 (7,6%) случаях соответственно ( $p=1,0$ ), II степени – в 5 (3,2%) и 2 (1,7%), ( $p=0,6$ ). Гипоплазия III степени диагностирована в 24 (15,3%) и 21 (17,9%) случаях в 1-ой и 2-ой группах соответственно ( $p=0,5$ ).

В плацентах исследуемых групп определялись нарушения имплантации и плацентации в виде гипоплазии данного органа, краевого прикрепления пуповины и неправильной формы плацент (двудолевая, треугольная, бобовидная и окруженная ободком). Достоверных различий по частоте встречаемости аномальных форм плацент в исследуемых группах не выявлено. Так, в группе

пациенток, родивших детей с врожденной пневмонией, данный признак определялся в 21 (13,3%) случае, а в группе пациенток, родивших детей без врожденной пневмонией – в 20 (17,1%) случаях,  $p=0,36$ .

При гистологическом исследовании плацент обеих групп выявлен ряд патоморфологических изменений, ведущее место среди которых занимали воспаление и нарушения маточно-плацентарного кровообращения. Острые и хронические нарушения маточно-плацентарного кровотока в виде венозной отслойки нормально расположенной плаценты, инфарктов ворсинчатого хориона и тромбоза межворсинчатого пространства выявлены в 1/3 случаев (Таблица 6).

Таблица 6 – Нарушения маточно-плацентарного кровообращения в плацентах детей, родившихся глубоко недоношенными

Вид нарушения	Обследуемые группы				Достоверность ь различий, р
	1 группа (с врожденной пневмонией)		2 группа (без врожденной пневмонии)		
	п	%	п	%	
ПОНРП	28	17,8	12	10,3	0,06
Инфаркты ворсин	28	17,8	18	15,3	0,51
Тромбоз межворсинчатого пространства	2	1,27	4	3,4	0,22

Выявленные нарушения гемоциркуляции в плацентах исследуемых групп сочетались с воспалением в плодных оболочках и элементах ворсинчатого дерева без статистически значимых различий в пределах анализируемых групп (Таблица 7). Практически в половине плацент диагностирован лимфоцитарный базальный децидуит – в 71(45,2%) и 52(44,4%) случаях соответственно в группах ( $p=0,87$ ). Париетальный децидуит – в 39(24,8%) и 36(30,8%) случаях в 1-ой и 2-ой группах соответственно ( $p=0,27$ ). В плацентах 1-ой и 2-ой групп, как проявление хронического воспаления на гематогенную циркуляцию вирусов и бактериальных компонентов, диагностирован виллузит промежуточных и терминальных ворсин в



40(25,5%) и 36(30,8%) плацентах соответственно ( $p=0,27$ ). В единичных плацентах воспалительные изменения сопровождались формированием поствоспалительного фиброза стромы: в 3(1,9%) случаях у пациенток 1-ой группы и в 2(1,7%) случаях у пациенток 2-ой группы ( $p=0,90$ ). Васкулит створчатых ворсин диагностирован в 13(8,3%) и 14(11,9%) случаях, соответственно ( $p=0,26$ ).

Таблица 7 – Воспаление в последе при восходящей бактериальной инфекции

Вид нарушения	Обследуемые группы				Достоверность различий, р
	1 группа (с врожденной пневмонией)		2 группа (без врожденной пневмонии)		
	п	%	п	%	
Хориоамнионит	28	17,8	19	16,2	0,66
Плацентарный хорионит	23	14,6	11	9,4	0,14
Субхориальный интервиллузит	28	17,8	14	11,9	0,17
Фуникулит (сосудисто-стромальный)	9	5,7	6	5,1	0,72

Воспаление в виде восходящей бактериальной инфекции в плацентах исследуемых групп было представлено острым хориоамнионитом, плацентарным хорионитом, субхориальным интервиллизитом и сосудисто - стромальным фуникулитом без статистически значимых различий в пределах сравниваемых групп.

Острый хориоамнионит диагностирован в 17,8% случаев 1-ой группы и в 16,2% – 2-ой ( $p=0,66$ ). Фетальный воспалительный ответ в виде сосудисто-стромального фуникулита, обусловленного внутриутробной инфекцией, с одинаковой частотой (5,7% и 5,1%,  $p=0,83$ ) определялся в плацентах исследуемых групп. Виллизит неуточненной этиологии (ВНЭ) как проявление иммунных воспалительных поражений плаценты диагностирован в 22,5% случаев 1-ой группы и 30,7% случаев 2-ой группы ( $p=0,27$ ). ВНЭ характеризовался поражением

дистальных отделов ворсинчатого дерева с развитием облитерирующей фетальной васкулопатии, которая сочеталась с задержкой роста плода.

Следует подчеркнуть, что полученные результаты морфологического исследования плацент обеих групп являются дополнительным подтверждением определяющей роли инфекционного фактора в патогенезе преждевременных родов и в развитии внутриутробного инфицирования плода, что совпадает с данными литературы о первостепенной роли инфекции в морфогенезе преждевременных родов [50, 263, 312, 369].

Дисциркуляторные и воспалительные изменения в плацентах исследуемых групп сопровождались развитием дистрофических процессов в эпителии и строме ворсин. Данные процессы определялись в плацентах обеих групп без статистически значимых различий и были представлены повышенным отложением фибрина – в 27 (17,1%) и 26 (22,2%) случаях ( $p=0,29$ ) и солей кальция (петрификатов) в структурах ворсинчатого хориона и базальной пластинки – в 14 (8,9%) и 18 (15,3%) плацентах женщин, соответственно, ( $p=0,12$ ).

Выявленные патоморфологические изменения в плацентах, способствовали развитию процессов адаптации и компенсации, выраженность которых в плацентах отличалась разнообразием. Полнокровие промежуточных и терминальных ворсин, что отражает адаптационные процессы в плаценте, определялись статистически значимо чаще в плацентах женщин 1-ой группы – в 16 (10,1%) случаях, тогда как во 2-ой группе – только в 2 (1,7%) случаях ( $OR=6,52$ , 95%-й ДИ 1,47–28,96;  $p=0,006$ ). Компенсаторные реакции в виде гиперплазии капилляров терминальных ворсин, составляющих структурную основу реализации трофической функции плаценты, достоверно чаще регистрировались в плацентах женщин 2-ой группы – в 10 (6,4%) случаях, против 3 (1,9%) случаев в 1 группе ( $OR 0,21$ , 95%-й ДИ 0,06–0,78;  $p=0,016$ ). Остальные виды компенсаторных реакций (гиперплазия терминальных ворсин, синцитиокапиллярных мембран и синцитиальных узелков) по частоте встречаемости статистически значимо в группах не различались.

При сопоставлении патоморфологических изменений в плацентах исследуемых групп со степенью выраженности компенсаторных процессов диагностирована плацентарная недостаточность, основным патоморфологическим субстратом которой явились воспалительно-иммунные процессы в сочетании с острыми и хроническими нарушениями маточно-плацентарного кровообращения. Острая плацентарная недостаточность определялась в 1-ой группе – в 28 (17,8%) случаях, против 12 (10,3%) случаев во 2-ой группе ( $p=0,06$ ). В более чем половине случаев была диагностирована хроническая плацентарная недостаточность (ХПН) без достоверных различий в группах – в 80 (50,9%) и 62 (52,9%) случаях соответственно в группах ( $p=0,74$ ). Характерным патоморфологическим признаком хронической плацентарной недостаточности были: повышенное отложение фибрина и фибриноида в зонах некроза эпителия ворсин, снижение объема межворсинчатого пространства, групповые скопления склерозированных ворсин, окруженных фибрином и фибриноидом с пролиферацией клеток незрелого вневорсинчатого цитотрофобласта. В равном соотношении диагностированы суб- и декомпенсированная стадии хронической плацентарной недостаточности. Декомпенсированная ПН выявлена – в 47 (29,9%) случаях в 1-ой группе и 32 (27,3%) случаях во 2-ой группе соответственно ( $p=0,63$ ), а субкомпенсированная – в 33 (21,0) - в 1-ой группе и в 30 (25,6%) – во 2-ой группе.

Таким образом, ведущее место в структуре патоморфологических изменений в плацентах детей с врожденной пневмонией и без таковой занимает острое и хроническое воспаление в сочетании с нарушениями маточно-плацентарного кровообращения на фоне недоразвития компенсаторных процессов в ней. Отсутствие статистических значимых межгрупповых различий в плацентах по частоте выявленной патологии на органном и тканевом уровнях предполагает поиск и разработку новых дополнительных молекулярных и ультраструктурных плацентарных маркеров, определяющих пато- и морфогенез врожденной пневмонии у данной категории детей.

### 3.3 КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

Всего под наблюдением находилось 274 ребенка сроком гестации менее 32 недель, массой при рождении менее 1500 г. В 1-ой группе (с врожденной пневмонией) было 86 (54,8%) девочек и 51 (45,2%) мальчик, во 2-ой группе – 57 (48,7%) девочек и 60 (51,3%) мальчиков ( $p>0,05$ ).

Количество детей с очень низкой (ОНМТ) и экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) при рождении в группах статистически значимо не различалось. С очень низкой массой тела при рождении в 1-ой группе было 78 (49,7%) детей, во 2-ой группе – 69 (59,0%). С экстремально низкой массой тела при рождении в 1-ой группе – 78 (49,7%) детей, во 2-ой группе – 48 (41,0%). Лишь у одного ребенка 1-ой группы была крайне низкая масса тела при рождении (менее 500 г).

У детей 1-ой группы гестационный возраст был статистически значимо ниже и составил 28 [27; 30] недель, во 2-ой группе – 30 [27; 30] недель ( $p=0,0003$ ).

При распределении детей в группах в зависимости от гестационного возраста было выявлено, что в обеих группах больше всего было пациентов сроком гестации 28–30 недель (76 (48,4%) и 47 (40,2%) новорожденных соответственно,  $p=0,18$ ) (Таблица 8).

Таблица 8 – Распределение обследованных детей в зависимости от гестационного возраста

Показатели	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа (с врожденной пневмонией) (n=157)		2 группа (без врожденной пневмонии) (n=117)		
	абс.	%	абс.	%	
27недель 6/7 и менее	53	33,8	26	22,2	0,03
28недель 0/7-30 недель 6/7	76	48,4	47	40,2	0,18
31неделя 0/7-31 неделя 6/7	28	17,8	44	37,6	0,0003

Детей, гестационным возрастом 27 недель и менее значимо больше было в 1-ой группе (53 (33,8%) против 26 (22,2%) во 2-ой,  $p=0,03$ ). Соответственно детей гестационным возрастом 31-32 недели в 1-ой группе было статистически значимо меньше, по сравнению со второй (22 (17,8%) ребенка и 44 (37,6%) соответственно,  $p=0,0003$ ).

Физическое развитие у большинства детей соответствовало гестационному возрасту. По основным антропометрическим показателям (масса, длина и окружность головы) в группах имелись статистически значимые различия (Таблица 9). Так, масса тела при рождении у детей 1-ой группы составила 997 [945; 1350] г, что меньше ( $p=0,025$ ), чем у детей 2-ой группы - 1200 [980; 1420]г. Длина тела у детей 1 группы также была меньше ( $p=0,008$ ) и составила 36 [34; 39] см, во 2 группе – 37 [35; 40] см. Окружность головы составила 27 [25; 28] см и 27 [26; 29]см в группах соответственно ( $p=0,032$ ). Окружность груди – 24 [22; 25] см у детей 1 группы и 24 [23; 25] см у детей 2 группы ( $p=0,08$ ).

Таблица 9 – Показатели физического развития обследованных новорожденных

Показатели	Группы обследованных детей		Достоверность различий, p
	1 группа	2 группа	
Масса (г)	997 [945; 1350]	1200 [980;1420]	0,025
Длина (см)	36 [34; 39]	37 [35; 40]	0,008
Окружность головы (см)	27 [25; 28]	27 [26; 29]	0,032
Окружность груди (см)	24 [22; 25]	24 [23; 25]	0,08

Практически у одной трети детей в каждой группе антропометрические данные не соответствовали гестационному возрасту: 68 (43,3%) детей в 1-ой группе и 39 (33,3%) детей 2-ой группы (0,09) (Таблица 10).

Число детей с гипотрофией (массо-ростовыми показателями ниже 10-го перцентиля) статистически значимо не различалось. В 1-ой группе таких детей было 19 (12,1%) детей (код по МКБ X – P05). Из них – 6 (3,8%) детей маловесных для гестационного возраста, 10 (6,4%) детей малых для гестационного возраста, у

3 (1,9%) детей диагностирована недостаточность питания без снижения массы и длины. У 8 (5,1%) пациентов выявлено изолированное снижение длины менее 10 перцентиля.

Таблица 10 – Физическое развитие детей при рождении

Варианты физического развития	Группы обследованных детей		Достоверность различий, р
	1 группа (n=157)	2 группа (n=117)	
Нормальное (соответствует гестационному возрасту)	89 (56,7%)	78 (66,7%)	0,92
С отклонениями (не соответствует гестационному возрасту), в том числе:	68 (43,3%)	39 (33,3%)	0,09
«Маловесный для гестационного возраста» (P05.0)	6 (8,8%)	4 (10,3%)	0,83
«Малый для гестационного возраста» (P05.1)	10 (14,7%)	11 (28,2%)	0,07
Недостаточность питания при нормальной массе и длине (P05.2)	3 (4,4%)	3 (7,7%)	0,49
Длина тела <10 перцентиля при нормальной массе	8 (11,8%)	6 (15,4%)	0,54
Масса тела >90 перцентиля при нормальной длине тела	7(10,3%)	3(7,2%)	0,69
Длина тела >90 перцентиля	12 (7,6%)	2(5,1%)	0,07
Окружность головы >90 перцентиля	16 (23,5%)	8 (20,5%)	0,71
Окружность головы <10 перцентиля	6 (8,8%)	2 (5,1%)	0,55

Во 2-ой группе детей с гипотрофией было 18 (15,4%) детей, из них – 4 (3,4%) детей маловесных для ГВ, 11 (7,0%) – малых для ГВ, недостаточность питания без снижения массы и длины выявлена у 3 (2,6%) детей. Изолированное

снижение длины тела менее 10 перцентиля при нормальной массе тела выявлено у 6 (5,4%) детей.

Кроме того, были выявлены отклонения в физическом развитии и в виде повышения его параметров более 90 перцентиля без статистически значимых различий. Масса тела более 90 перцентиля при нормальной длине тела у 7(4,5%) детей 1-ой группы и 3(2,6%) детей 2-ой группы. Длина тела более 90 перцентиля - 12 (7,6%) и 2(1,7%) детей соответственно. Увеличение окружности головы при нормальных массе и длине тела выявлено у 16 (10,1%) детей 1-ой группы и 8 (6,8%) детей 2-ой группы и не было связано с патологией ЦНС (в т.ч. гидроцефалией).

Изолированное уменьшение окружности головы (менее 10 перцентиля) было выявлено у 6 (3,8%) детей 1-ой группы и 2 (1,78%) детей 2-ой группы и также не было связано с заболеваниями ЦНС (в т.ч. генетическими).

В тяжелой асфиксии (оценка по шкале Апгар в конце 1-ой минуты жизни 3 и менее баллов) родилось 76 (48,4%) детей 1-ой группы, что статистически значимо чаще, чем в группе детей без врожденной пневмонии - 33 (28,2%) ребенка ( $p=0,009$ ) (Таблица 11).

Таблица 11 - Оценка по шкале Апгар обследованных новорожденных

Показатели			Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
			1 группа n=157		2 группа n=117		
			Абс.	%	Абс.	%	
Оценка по шкале Апгар	Конец 1-ой минуты	3 и менее баллов	76	48,4	33	28,2	0,009
		4-6 баллов	79	50,3	82	70,1	0,001
		7 и более баллов	2	1,3	2	1,7	0,78
	Конец 5-ой минуты	3 и менее баллов	22	14,0	5	4,3	0,006
		4-6 баллов	120	76,4	94	80,3	0,43
		7 и более баллов	15	9,6	18	15,4	0,14

Умеренная асфиксия (оценка по шкале Апгар в конце 1-ой минуты жизни 4-6 баллов) была диагностирована статистически значимо чаще у детей без врожденной пневмонии – 82 (70,1%) ребенка и у 79 (50,3%) детей с врожденной пневмонией ( $p=0,001$ ). По 2 ребенка в каждой группе (1,27% и 1,7% в группах соответственно) родились без асфиксии.

Несмотря на статистически значимые различия в частоте тяжелой асфиксии у детей в группах, медиана оценки по шкале Апгар в конце 1-ой минуты жизни в группах статистически не различалась и составила 4 [2; 5] балла в 1-ой группе и 4 [3; 5] балла во 2-ой группе. Однако, к концу 5-ой минуты жизни у детей 1-ой группы оценка (медиана) по шкале Апгар была значимо ниже – 5 [4; 6] баллов, во 2-ой группе – 6 [3; 8] баллов ( $p=0,001$ ). В 1-ой группе статистически значимо было больше детей, у которых при проведении реанимации и стабилизации в родильном зале сохранялась оценка по шкале Апгар менее 3 баллов (22 (14,0%) ребенка 1-ой группы против 5 (4,3%) детей 2-ой группы,  $p=0,006$ ). Это указывает на то, что дети без врожденной пневмонии на этапе родильного зала на фоне проводимых реанимационных мероприятий стабилизировались быстрее.

При рождении все дети имели нарушения дыхания, тяжесть которых оценивалась по шкале Сильверман. Более выраженные дыхательные нарушения были у детей с врожденной пневмонией. У детей этой группы оценка дыхательных нарушений по шкале Сильверман составила 5 [4; 6] баллов. Во 2-ой группе – 4 [4; 5] балла ( $p=0,01$ ).

Всем пациентам, включенным в исследование, в родильном зале проводили комплекс реанимации и стабилизации [16, 83]. В зависимости от наличия/отсутствия самостоятельного дыхания и его регулярности для восстановления и стабилизации дыхательной функции применяли различные виды респираторной поддержки: постоянное положительное давление в дыхательных путях (continuous positive airway pressure - CPAP) с помощью лицевой маски (с последующим переходом на назофарингеальную трубку или биназальные канюли), масочная ИВЛ, эндотрахеальная ИВЛ (Таблица 12). При этом использовались системы типа «Т-коннектор» с контролем давления на вдохе



(PIP), положительного давления в конце выдоха (PEEP) и фракции кислорода во вдыхаемой смеси (FiO<sub>2</sub>). Выше перечисленные способы респираторного драйва применяли как в изолированном варианте, так и в комбинации друг с другом в зависимости от клинической ситуации. Маневр продленного раздувания легких применяли у детей, не имевших самостоятельного дыхания. Некоторые дети на этапе родильного зала не требовали респираторной поддержки.

Таблица 12 – Стартовые способы респираторной стабилизации обследованных новорожденных в родильном зале

Способ	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа (n=157)		2 группа (n=117)		
	абс.	%	абс.	%	
CPAP через лицевую маску	60	38,2	70	59,8	0,0005
ИВЛ через лицевую маску	44	28,0	20	17,1	0,034
ИВЛ через ЭТТ	46	29,3	21	17,9	0,03
Маневр продленного раздувания легких	3	1,9	1	0,9	0,49
Без респираторной поддержки	4	2,5	5	4,3	0,40

В обеих группах, дети гестационным возрастом 28 недель и менее, получали стартовую респираторную поддержку с FiO<sub>2</sub> 0,3–0,4 (80 (50,9%) детей 1-ой группы и 38 (32,5%) детей 2-ой группы, p=0,003 (в соответствии с нормативными документами [16, 83]). Остальные дети обеих групп получали начальную респираторную поддержку с FiO<sub>2</sub> 0,21. Среди этих детей в процессе проводимых мероприятий 27 (17,2%) новорожденных 1-ой группы и 16 (13,7%) из 2-ой группы потребовали увеличения содержания O<sub>2</sub> во вдыхаемой смеси более 0,21 до достижения целевых показателей сатурации (Таблица 13).

Таблица 13 – Использование дополнительного кислорода при проведении реанимационных мероприятий и стабилизации в родильном зале

Показатели	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа (n=157)		2 группа (n=117)		
	абс.	%	абс.	%	
Стартовый FiO <sub>2</sub> 0,21	77	49,1	79	97,5	0,000
Стартовый FiO <sub>2</sub> 0,3–0,4 у детей ГВ 28 недель и менее	80	50,9	38	32,5	0,0019
Потребность в увеличение FiO <sub>2</sub> более 0,21 у детей ГВ более 28 недель	27	17,2	16	13,7	0,36
Всего детей, получивших дополнительный O <sub>2</sub> в род.зале	107	68,2	54	46,2	0,0003

По окончании стабилизации в родильном зале новорожденных транспортировали в ОРИТН в условиях транспортного кувеза, аппаратного мониторинга, респираторной поддержки (инвазивной/неинвазивной ИВЛ в зависимости от тяжести пациента) с автоматическим поддержанием температуры тела. Респираторную поддержку пациентов осуществляли следующим способом: СРАР с помощью назальных канюль/через назофарингеальную трубку, ИВЛ через эндотрахеальную трубку или без респираторной поддержки (Таблица 14).

Более половины пациентов 1-ой и 2-ой группы (85 (54,1%) детей и 80 (68,3%) в группах соответственно, p=0,01) транспортировали из родильного зала в ОРИТН на неинвазивной респираторной поддержке с помощью назальных канюль, либо через назофарингеальную трубку (метод СРАР).

Таблица 14 – Проведение респираторной поддержки обследованных новорожденных во время транспортировки из родильного зала в ОРИТН

Показатели	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа (n=157)		2 группа (n=117)		
	абс.	%	абс.	%	
Назальный СРАР	85	54,1	80	68,3	0,02
ИВЛ через ЭТТ	68	43,3	32	26,5	0,004
Без респираторной поддержки	4	2,5	5	4,3	0,40

Учитывая, что все дети имели дыхательные нарушения, после перевода в ОРИТН им продолжали проведение респираторной поддержки. Выбор метода зависел от динамики тяжести дыхательных нарушений и основывался на современных методах респираторной терапии: СРАР, двухуровневая неинвазивная вентиляционная поддержка BiPhasic, традиционная (конвекционная) пациент-триггерная эндотрахеальная ИВЛ и ВЧОВЛ, использование которых проводили с целью восстановления газообмена, стабилизации дыхательной функции, минимизации осложнений, ассоциированных с ИВЛ, и снижения риска реализации инвалидизирующих исходов у обследованных пациентов.

Изолированную O<sub>2</sub>-терапию, как способ стабилизации дыхательной функции, применяли только у 7 (4,5%) пациентов с врожденной пневмонией и у 11 (9,4%) пациентов без врожденной пневмонии (p=0,10). У остальных детей применяли различные комбинации респираторной поддержки. В 1-ой группе у подавляющего большинства детей (122 – 77,7%) использовали традиционную (конвекционную) ИВЛ. В то время как во 2-ой группе преобладали неинвазивные (СРАР, BiPhasic) стратегии респираторной терапии (71 ребенок – 60,7%). Проведение ВЧОВЛ требовалось только пациентам 1-ой группы – 14 (8,9%), p=0,001). Все дети, которым проводили традиционную (конвекционную) ИВЛ,

потребовали увеличения содержания  $O_2$  во вдыхаемой смеси для обеспечения оптимальной оксигенации (Таблица 15).

Таблица 15 – Структура способов и комбинаций методов респираторной терапии у обследованных новорожденных

Показатели	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа (n=157)		2 группа (n=117)		
	абс.	%	абс.	%	
nCPAP + O <sub>2</sub>	24	15,2	57	48,7	0,000
nCPAP/BiPhasic+O <sub>2</sub>	4	2,5	14	11,9	0,002
nCPAP/BiPhasic+ИВЛ+O <sub>2</sub>	17	10,8	4	3,4	0,023
ИВЛ+CPAP	49	31,2	24	20,5	0,048
ИВЛ+O <sub>2</sub>	42	26,8	7	5,9	0,000
ИВЛ+ВЧОВЛ+CPAP	14	8,9	—	—	0,001
O <sub>2</sub>	7	4,5	11	9,4	0,10

При проведении респираторной терапии у обследуемых пациентов были выявлены статистически значимые различия не только в комбинации ее методов, но и длительности. Длительность ИВЛ в 1-ой группе составила 136 [62; 237] часов, против 46 [16; 98] часов во 2-ой группе ( $p=0,0001$ ). Длительность неинвазивной вентиляции у детей 1-ой группы также была значимо дольше в сравнении с детьми второй группы (72 [44; 120] и 48 [24; 83] часов в группах соответственно,  $p=0,002$ ).

Учитывая, что все обследованные новорожденные были глубоко недоношенными, в патогенезе их дыхательных нарушений значимую роль играли такие факторы как незрелость легочной ткани и первичный дефицит сурфактанта

той или иной степени выраженности. Ключевым элементом профилактики и лечения данной патологии является использование экзогенного сурфактанта.

В соответствии с клиническими рекомендациями [16], подавляющему большинству детей проводили эндотрахеальное введение сурфактанта. Использовали препарат экзогенного сурфактанта порактант-альфа. Введения сурфактанта в родильном зале потребовали 51 (32,5%) ребенок 1-ой группы и 15 (12,8%) 2-ой группы,  $p=0,001$ . Из них у 50 пациентов 1-ой группы и у 2 пациентов 2-ой группы сурфактант вводили стандартным способом через дополнительный порт ЭТТ или с помощью катетера: болюсно, доза 200 мг/кг. Методом LISA (малоинвазивное эндотрахеальное введение сурфактанта) сурфактант вводили только в 3 случаях: 1 (0,6%) ребенок 1-ой группы и 2 (1,7%) ребенка 2-ой группы,  $p=0,38$ . Применение сурфактанта при рождении проводили статистически значимо чаще детям 1-ой группы – 51 (32,5%) ребенок, в то время как во 2-ой группе сурфактант был введен 15 (12,8%) пациентам,  $p=0,001$  (Таблица 16).

Таблица 16 – Использование сурфактанта и способы его введения обследованным новорожденным в родильном зале

Показатели	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа (n=157)		2 группа (n=117)		
	абс.	%	абс.	%	
Применение сурфактанта. Из них:	51	32,5	15	12,8	0,001
Стандартное введение с использованием эндотрахеальной трубки	50	98,0	13	86,7	0,06
Малоинвазивное введение сурфактанта по методике LISA	1	2,0	2	13,3	0,07

Проведенный анализ реанимации и стабилизации детей в родильном зале показал, что дети 1-ой группы (с врожденной пневмонией) имели более выраженные дыхательные нарушения при рождении и для стабилизации состояния, дыхательной функции, обеспечения адекватного газообмена потребовали применения не только более агрессивных способов респираторной поддержки, дополнительной оксигенотерапии, но и более частого применения экзогенного сурфактанта.

После перевода в ОРИТН, детям на респираторной поддержке методом СРАР, не получившим сурфактант на этапе родильного зала (в отсутствии показаний), при возрастающей потребности в  $FiO_2$  до 0,35 у пациентов с экстремально низкой массой тела и до 0,4 у детей с очень низкой массой тела проводили раннее терапевтическое введение препарата экзогенного сурфактанта в первые 3–6 часов жизни. Такую терапию получили 59 (37,6%) ребенка 1-ой группы и 46 (39,3%) детей 2-ой группы ( $p=0,03$ ) (Таблица 17).

Таблица 17 – Применение экзогенного сурфактанта в родильном зале и ОРИТН

Показатели	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа (n=157)		2 группа (n=117)		
	абс.	%	абс.	%	
Применение сурфактанта в родильном зале	51	32,5	15	12,8	0,001
Раннее терапевтическое	59	37,6	46	39,3	0,03
Позднее терапевтическое	16	10,2	6	5,1	0,12
Всего применений сурфактанта (однократное)	126	80,3	67	57,3	0,000
Повторное введение сурфактанта	43	34,1	11	16,4	0,008

Позднее терапевтическое введение сурфактанта проводили 16 (10,2%) пациентам 1-ой группы и 6 (5,1%) пациентам 2-ой группы ( $p=0,12$ ), т.к. прогрессирование дыхательных нарушений произошло позднее 6-ти часов после рождения.

Повторное введение препарата порактант альфа проводили при усилении дыхательных расстройств (перевод с nCPAP на традиционную ИВЛ, ужесточении параметров ИВЛ). Вводили сурфактант стандартным способом, через ЭТТ, болюсно, доза составила 100 мг/кг. Таких детей практически в 4 раза оказалось больше в 1-ой группе (43(34,1% от детей, получивших сурфактант) и 11 (16,4%) новорожденных в группах соответственно,  $p=0,008$ ).

Введение сурфактанта в ОРИТН проводили различными способами: стандартный метод с использованием ЭТТ (через дополнительный порт или с помощью катетера, введенного в однопросветную ЭТТ), метод INSURE (интубация, введение сурфактанта, кратковременная ИВЛ, экстубация с последующим переводом на неинвазивную ИВЛ), малоинвазивно с использованием технологии LISA (Таблица 18).

Таблица 18 – Способы введения сурфактанта в ОРИТН

Показатели	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа (n=75)		2 группа (n=52)		
	абс.	%	абс.	%	
Стандартный метод	43	57,3	14	26,9	0,000
INSURE	32	42,7	36	69,2	0,003
Малоинвазивное введение LISA	0	0	2	3,8	0,09

Применение более агрессивных способов респираторной терапии у новорожденных первой группы (традиционная ИВЛ, ВЧО ИВЛ, использование

высоких концентраций  $O_2$  во вдыхаемой смеси, более продолжительное время применения респираторной поддержки), свидетельствовало о более тяжелых нарушениях газообмена у данных пациентов, что и диктовало необходимость использования таких респираторных стратегий. Такие дети были подвержены формированию ассоциированных с ИВЛ повреждений легких (волюмо- и баротравма, травма, повреждение  $O_2$ ), что в свою очередь может привести к формированию хронических заболеваний бронхолегочной системы.

Проведенный статистический анализ осложнений, возникших в период респираторной поддержки глубоко недоношенных новорожденных, показал, что возникновение синдрома утечки воздуха в виде пневмоторакса, пневмоперикарда, пневмомедиастинума, было диагностировано только у пациентов 1-ой группы – 7 (4,5%) детей,  $p=0,02$ . Данное различие могло быть обусловлено, тяжестью и дальнейшим прогрессированием инфекционного процесса, а также эрготравмой легочной ткани в результате вынужденной агрессивной ИВЛ, направленной на стабилизацию и поддержку респираторной системы пациентов первой группы.

Легочное кровотечение может быть рассмотрено как осложнение проведения ИВЛ, так и проявление некоторых патологических процессов (отек легких на фоне гиперволемии малого круга кровообращения, шок, инфекция, кардиогенный отек легких на фоне перенесенной асфиксии, заболевания сердца и ВПС, коагулопатии, геморрагической болезни новорожденных) [5]. Данное осложнение было диагностировано у детей обеих групп, однако статистически значимо чаще оно регистрировалось у пациентов 1-ой группы (16 (10,2%) детей и 3 (2,6%) ребенка в группах соответственно,  $p=0,01$ ).

В исходе дыхательных нарушений различной этиологии у глубоко недоношенных детей может формироваться бронхолегочная дисплазия (БЛД). В патогенезе БЛД большое значение имеет инфекционно-воспалительный процесс. Причем как антенатальный, так и постнатальный. Выраженная инфекционно-воспалительная патология средних и нижних дыхательных путей значительно утяжеляет состояние новорожденного из-за системного воспалительного процесса, неадекватной работы сердечно-легочной системы. Использование



инвазивной ИВЛ у глубоко недоношенных детей с врожденной пневмонией на фоне морфофункциональной незрелости дыхательной системы способствует ее повреждению и определяет высокий риск формирования вентилятор-ассоциированных повреждений легких новорожденного с последующим развитием БЛД [71, 163]. В нашем исследовании также было выявлено, что формирование БЛД у детей с врожденной пневмонией происходило статистически значимо чаще, чем у детей без врожденной пневмонии (47 (29,9%) и 9 (7,7%) детей в группах соответственно,  $p=0,000$ ). Наличие врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных увеличивало риск развития БЛД ( $OR=5,13$ , 95%-й ДИ 2,4–10,97).

Проведенный корреляционный анализ также подтвердил влияние местного инфекционного процесса на формирование БЛД ( $r=0,27$ ,  $p=0,000$ ). В связи с этим возникает вопрос: что имеет большую значимость в формировании БЛД – врожденная пневмония или срок гестации, поскольку в нашем исследовании также выявлена взаимосвязь между сроком гестации и формированием БЛД ( $r= -0,25$ ,  $p=0,000$ ). Проведенный статистический анализ показал, что степень зависимости формирования БЛД как от гестационного возраста, так и от наличия врожденной пневмонии не различается ( $p=0,9$ ).

С целью верификации инфекционного процесса в первые сутки жизни детям выполнялся анализ лабораторных показателей [20]: учитывали лейкоцитоз более  $30 \times 10^9/\text{л}$ , лейкопению менее  $5 \times 10^9/\text{л}$ , нейтрофилез более  $20 \times 10^9/\text{л}$ , нейтропению менее 1800 кл/мкл, тромбоцитопению менее  $150 \times 10^9/\text{л}$ , нейтрофильный индекс  $>0,2$ , уровень С-реактивного белка в сыворотке крови более 5 мг/л. Кроме того, использовали результаты полуколичественного теста на прокальцитонин в сыворотке крови, выполненного на 2–3 сутки жизни (Таблица 19).

Проведенный анализ показал, что по данным показателям не было найдено статистически значимых межгрупповых различий, что связано с тем, что дети обеих групп развивались в условиях внутриутробного инфицирования (по

результатам анализа анамнеза их матерей и проведенного патоморфологического исследования плацент).

Таблица 19 – Показатели системной воспалительной реакции у обследованных новорожденных на 1-3 сутки жизни

Показатели	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа (с врожденной пневмонией) n=157		2 группа (без врожденной пневмонии) n=117		
	Абс.	%	Абс.	%	
Лейкоцитоз более 30х10 <sup>9</sup> /л	4	2,5	2	1,7	0,65
Нейтрофилез более 20х10 <sup>9</sup> /л	4	2,5	2	1,7	0,65
Нейтропения менее 1800кл/мкл	56	35,7	42	35,9	0,97
Тромбоцитопения менее 150×10 <sup>9</sup> /л	20	12,7	11	9,4	0,39
Нейтрофильный индекс ≥0,2	3	1,9	1	0,85	0,44
Уровень С- реактивного белка в сыворотке крови:					
0-5 mg/l	71	45,2	56	47,9	0,65
более 5mg/l	8	5,1	6	5,1	1,0
Уровень прокальцитонина в сыворотке крови:					
2-10 нг/мл	30	19,1	21	17,9	0,80
>10 нг/мл	13	8,2	3	2,6	0,051

С целью детекции возбудителя у детей с врожденной пневмонией проводилось исследование мокроты микробиологическим методом, который является более сложным и длительным по срокам выполнения, но позволяет определить чувствительность к антибиотикам, и методом ПЦР (качественный), позволяющим идентифицировать возбудителя в более короткие сроки. Исследование проводили в течение первых часов после рождения.

Положительные результаты при использовании метода ПЦР были получены у 91 (57,9%) ребенка 1 группы. Микробиологическим методом положительные результаты были получены у 101 (64,3%) ребенка.

И микробиологическим методом, и методом ПЦР определялись одни и те же виды микроорганизмов. При этом микробный пейзаж был представлен преимущественно Грам «+» бактериями: *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus* spp., *Streptococcus anhaemolyticus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Streptococcus viridians*. В трех случаях был обнаружен *Enterococcus faecalis*, при этом аналогичная флора была выявлена и у матерей детей из цервикального канала при их поступлении в стационар с излившимися околоплодными водами. Грам «-» флора была представлена: *Enterobacteriaceae* spp., *Acinetobacter* spp., *Citrobacter* spp. В единичных случаях была идентифицирована *Ureaplasma urealyticum*.

Инфекционно-воспалительная патология другой локализации, отличная от врожденной пневмонии, была диагностирована в обеих группах и была представлена таковой со стороны ЦНС, мочевыделительной системы и ЖКТ (Таблица 20). Только бактериальные менингиты чаще были диагностированы у пациентов 1-ой группы: у 13 (8,3%) детей с врожденной пневмонией и только у 3 (2,6%) детей без таковой ( $p=0,03$ ). При этом из 13 детей 1-ой группы с бактериальным менингитом, у 6 детей данная патология была частью системного воспалительного процесса (сепсиса). Остальная инфекционно-воспалительная патология встречалась в группах без статистически значимой разницы. Неонатальная инфекция мочевых путей диагностирована у 32 (20,4%) и 17

(14,5%) детей в группах соответственно ( $p=0,24$ ). Неонатальный гепатит – у 6 (3,8%) и 2 (1,7%) детей в группах соответственно ( $p=0,30$ ).

Таблица 20 – Частота инфекционно-воспалительной патологии в группах в неонатальном периоде

Патология	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа n=157		2 группа n=117		
	Абс.	%	Абс.	%	
Неонатальная инфекция мочевых путей (P39.3)	32	20,4	17	14,5	0,19
Бактериальный менингит (G00)	13	8,3	3	2,6	0,04
Неонатальный гепатит (P35.3)	6	3,8	2	1,7	0,30
Некротизирующий энтероколит (P77)	43	27,4	37	31,6	0,46
Сепсис новорожденного (P36)	8	5,1	2	1,7	0,13

Некротизирующий энтероколит представляет собой воспаление кишечной стенки с последующим её некрозом, в патогенезе которого большую роль играет бактериальная колонизация [295]. Это заболевание было выявлено у 43 (27,4%) детей 1-ой группы и 37 (31,6%) пациентов 2-ой группы ( $p=0,45$ ). Чаще диагностировали I-II стадию заболевания по классификации Bell et al. (1978), в модификации Walsh and Kliegman (1987) [68].

Проведенный индивидуальный анализ инфекционно-воспалительной патологии с учетом анамнеза, клинических проявлений, дополнительных методов исследования выявил, что в 1-ой группе детей в 8 случаях был диагностирован ранний неонатальный сепсис. То есть у 149 (94,9%) детей 1-ой группы

врожденная пневмония диагностирована изолированно, а у 8 детей – в составе системного воспалительного процесса. У детей 2-ой группы также был диагностирован ранний неонатальный сепсис, однако только в 2 (1,7%) случаях,  $p=0,13$ .

Сопутствующая патология у обследованных детей была представлена перинатальной патологией ЦНС, функционирующим артериальным протоком, анемией, ретинопатией недоношенных, неонатальной желтухой и др. состояниями.

На рестриктивные характеристики легочной ткани большое значение оказывает состояние артериального протока. Наличие ГЗ ФАП с лево-правым шунтированием приводит к усугублению тяжести РДС, снижению оксигенации и перфузии различных органов и систем, с развитием ранних и отдаленных последствий [79]. Проведенный нами анализ результатов доплерэхокардиографического исследования, которое было выполнено в первые 48 часов жизни, показал, что более половины детей каждой группы имели функционирующий артериальный проток (у 84 (53,5%) и 72 (61,5%) детей в группах соответственно,  $p=0,18$ ) (Таблица 21).

Таблица 21 – Наличие функционирующего артериального протока у обследованных новорожденных

Клинические данные	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа n=157		2 группа n=117		
	абс	%	абс	%	
Наличие ФАП, из них:	84	53,5	72	61,5	0,18
ГЗ ФАП	17	20,2	1	0,9	0,000
Лечение препаратом внутривенного ибупрофена	9	52,9	1	100	-

Однако ГЗ ФАП с лево-правым шунтированием статистически значимо чаще был диагностирован у пациентов 1 группы. Таким образом, наличие врожденной пневмонии увеличивает риск функционирования гемодинамически значимого артериального протока ( $OR=13,0$ , 95%-й ДИ 1,66-102,04), наличие которого в свою очередь усугубляет тяжесть респираторной патологии. Лечение ГЗ ФАП проводили внутривенной формой ибупрофена и было выполнено у 9 детей с врожденной пневмонией и у 1 ребенка без данной патологии.

Новорожденные обеих групп имели перинатальное поражение ЦНС (Таблица 22). Диагноз устанавливали на основании данных анамнеза, клинической картины, дополнительных методов исследования (нейросонография с доплерографическим исследованием кровотока). Ультразвуковое исследование проводилось с помощью микроконвексного датчика частотой 8 МГц и линейного датчика с частотой 10–15 МГц.

Преимущественным неврологическим синдромом у обследованных детей в раннем неонатальном периоде был синдром угнетения.

У всех пациентов диагностирована церебральная ишемия II или III степени тяжести. Однако, статистически значимо чаще у детей с врожденной пневмонией регистрировали тяжелую ЦИ (у 49 (31,2%) детей 1-ой группы против 10 (8,5%) во 2-ой,  $p=0,000$ ).

В обеих группах у обследованных детей были диагностированы внутримозговые кровоизлияния (внутрижелудочковые (ВЖК) и субарахноидальные (САК)). Статистически значимо чаще ВЖК были выявлены у пациентов с врожденной пневмонией (144 (91,7%) и 78 (66,6%) детей в группах соответственно. Среди ВЖК преобладали ВЖК I степени без статистически значимой разницы в группах (у 67 (46,5%) детей 1-ой группы и 46 (58,9%) детей во 2-ой группе,  $p>0,5$ ). В единичных случаях развились ВЖК III степени также без статистически значимой разницы в группах (у 9 (6,3) и 2 (2,6%) детей в группах соответственно,  $p>0,5$ ). Но ВЖК II степени чаще были диагностированы у детей с врожденной пневмонией (у 49 (34,0%) пациентов 1-ой группы против 7 (9,0%) во 2-ой группе,  $p=0,000$ ). Двусторонние ВЖК (чаще I степени) были

диагностированы у 19 (13,3%) детей 1-ой группы и у 23 (29,5%) детей 2-ой группы ( $p=0,001$ ). САК развивались редко, но статистически значимо чаще у детей с врожденной пневмонией (у 20 (12,7%) пациентов 1-ой группы против 4 (3,4%) во 2-ой группе,  $p=0,008$ ).

Интерес представляет частота перивентрикулярной лейкомаляции (ПВЛ) у обследованных новорожденных, поскольку именно эта патология ЦНС играет ведущую роль в формировании инвалидизирующих и дезадаптирующих состояний нервной системы. Проведенный анализ показал, что ПВЛ развилась у 10 (6,4%) пациентов 1-ой группы и только у 1 (0,9%) ребенка 2-ой группы ( $p=0,03$ ). Данная ситуация является объяснимой, поскольку в генезе ПВЛ ряд авторов важную роль отводят эндотоксинам и медиаторам воспаления [140].

Таблица 22 – Перинатальное поражение центральной нервной системы у обследованных новорожденных

Патология	Группы обследованных новорожденных				Достовер- ность различий, р
	1 группа n=157		1 группа n=117		
	абс	%	абс	%	
Церебральная ишемия II степени	108	68,8	107	91,5	0,000
Церебральная ишемия III степени	49	31,2	10	8,5	0,000
Внутрижелудочковые кровоизлияния, в т.ч.:					
ВЖК I степени	144	91,7	78	66,6	0,000
ВЖК II степени	67	46,5	46	58,9	-
ВЖК III степени	49	34	7	9,0	0,000
ВЖК двусторонние	9	6,3	2	2,6	-
	19	13,2	23	29,5	0,001
САК	20	12,7	4	3,4	0,008
ПВЛ	10	6,4	1	0,9	0,03

Расчёт отношения шансов показал, что наличие врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных увеличивает риск развития церебральной

ишемии III степени (OR=4,85, 95%-й ДИ 2,34–10,08), ВЖК (OR=5,55, 95%-й ДИ 2,79–10,99), ВЖК 2 степени (OR=5,23, 95%-й ДИ 2,24–12,23), САК (OR=4,12, 95%-й ДИ 1,37–12,47), ПВЛ (OR=7,89, 95%-й ДИ 1,0–62,54).

Проведен анализ частоты развития тяжелой анемии, поскольку данное состояние требует трансфузии эритроцитной массы. Тяжелую анемию статистически значимо чаще диагностировали у детей в отделении выхаживания недоношенных детей II этапа стационара клиники, которая была выявлена у 71 (45,2%) ребенка с врожденной пневмонией и 36 (30,8%) детей без данной патологии ( $p=0,016$ ). Анемия недоношенных имеет мультифакторный генез, в том числе и инфекционный. При инфекционных процессах увеличивается продукция белков острой фазы, в том числе ферритина и гепсидина, которые принимают участие в обмене железа в организме. При заболеваниях, сопровождающихся длительной циркуляцией в плазме провоспалительных цитокинов, происходит задержка железа в клетках ретикуло-эндотелиальной системы и перегрузка их железом в составе ферритина. При этом ферритин начинает превращаться в гемосидерин. Гемосидерин крайне медленно деградирует, но, в то же время прочно связывает железо, не позволяя ему высвободиться, что приводит к снижению содержания железа в сыворотке крови. В последующем, большие количества гемосидерина подвергаются аутофагоцитозу. Повышенный уровень гепсидина при воспалении приводит к снижению всасывания железа в кишечнике. Вышеперечисленные процессы способствуют развитию анемии у недоношенных детей [38, 217, 251].

Анализ частоты развития ретинопатии недоношенных (РН) также показал, что данная патология статистически значимо чаще была диагностирована у детей с врожденной пневмонией – у 37 (23,6%) пациентов 1-ой группы и лишь у 14 (11,9%) 2-ой ( $p=0,02$ ) (Таблица 23). Это связано с тем, что у детей данной группы статистически значимо чаще выявляли такие факторы риска формирования РН как более низкий гестационный возраст, тяжелая асфиксия при рождении, проводимая традиционная ИВЛ. Ретинопатия недоношенных как 1, так и 3 стадии определяли в группе без достоверных различий. В обеих группах преобладала



ретинопатия 1 стадии – более половины случаев. 2 стадия ретинопатии у детей с врожденной пневмонией встречалась статистически значимо чаще (9 (24,3%) и 2 (14,3%) пациентов в группах соответственно,  $p=0,04$ ).

Таблица 23 – Частота и структура ретинопатии недоношенных у обследованных новорожденных

Частота	Группы обследованных новорожденных				Достоверность различий, р
	1 группа n=157		1 группа n=117		
	абс	%	абс	%	
Ретинопатия недоношенных,  из них:	37	23,6	14	11,9	0,02
1 стадия	22	59,2	9	64,3	0,74
2 стадия	9	24,3	2	14,3	0,04
3 стадия	6	16,2	3	21,4	0,67

У большинства детей произошел регресс заболевания. У 9 (24,3%) пациентов 1-ой группы и 3 (21,4%) пациентов 2-ой группы ( $p=0,82$ ) произошло прогрессирование РН до пороговых стадий, вследствие чего детям проводили транспупиллярную лазерную коагуляцию аваскулярных зон сетчатки с помощью лазерной установки Pascal. Только у двух (1,3%) детей 1-ой группы произошло дальнейшее прогрессирование заболевания, что потребовало добавочной лазерокоагуляции, у одного ребенка – витрэктомии.

Исследование слуха проводили в соответствии с информационным письмом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 30 декабря 2008г. № 10329-ВС «О проведении аудиологического скрининга». По достижению 34 недель постконцептуального возраста всем детям, включенным в исследование, был проведен первичный аудиологический скрининг. У 13 (11,3 %) детей обеих групп (10 детей 1-ой группы и 3 ребенка 2-ой

группы) был зарегистрирован отрицательный результат аудиологического обследования методом вызванной отоакустической эмиссии. Выявленные нарушения слуха были подтверждены методом коротколатентных слуховых вызванных потенциалов (КСВП) и им был поставлен диагноз нейросенсорной тугоухости 1-2-й степени тяжести. После выписки из стационара этим пациентам проводили углубленное аудиологическое исследование у сурдолога. В последующем, у 11 детей нарушения слуха не были выявлены, что, вероятно, связано с созреванием звукопроводящих путей.

Кроме респираторной терапии, все обследованные новорожденные как в ОРИТН, так и в отделении выхаживания недоношенных детей II этапа стационара клиники, получали комплексную терапию, направленную на стабилизацию всех органов и систем.

Был проведен статистический анализ антибактериальной терапии, частоты гемотрансфузий и трансфузий свежезамороженной плазмы.

Анализ антибактериальной терапии показал, что стартовая антибактериальная терапия была одинаковой и была представлена комбинацией ампициллина с аминогликозидом. Коррекцию эмпирической схемы антибактериальной терапии проводили в зависимости от результатов бактериологического анализа и чувствительности флоры к антибиотикам.

При анализе длительности и количества курсов антибактериальной терапии было выявлено, что только у 8 (5,1%) пациентов 1-ой группы и 21 (17,9%) ( $p=0,001$ ) 2-ой группы был проведен один курс антибактериальной терапии. Более половины детей (84-53,5%) с врожденной пневмонией потребовали применения 3 и более курсов антибактериальной терапии против 31 ребенка без врожденной пневмонии ( $p=0,000$ ) (Таблица 24). Тогда как у детей без врожденной пневмонии чаще применяли 2 курса антибактериальной терапии ( $p=0,033$ ). Использование повторных курсов антибактериальной терапии проводили с учетом состояния ребенка и результатов лабораторного обследования.

Таблица 24 – Количество курсов антибактериальной терапии у обследованных новорожденных

	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа n=157		2 группа n=117		
	абс.	%	абс.	%	
1 курс	8	5,1	21	17,9	0,001
2 курса	65	41,4	64	54,7	0,033
3 и более курса	84	53,5	31	26,5	0,000

С целью восстановления кислородной емкости крови и оптимизации тканевой оксигенации у 75 (47,8%) пациентов 1-ой группы и 36 (30,8%) 2-ой группы с тяжелой анемией была проведена трансфузия эритроцитной массы ( $p=0,0048$ ). Только детям 1-ой группы (у 4 из 75 (5,3%)) проводили повторные гемотрансфузии.

Расчёт отношения шансов показал, что наличие врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных увеличивает риск развития тяжелой анемии ( $OR=2,06$ , 95%-й ДИ 1,25–3,4).

Кроме того, статистически значимо чаще у детей с врожденной пневмонией с целью профилактики/купирования геморрагических осложнений проводили трансфузии свежезамороженной плазмы (у 77 (49,0%) пациентов 1-ой группы против 40 (34,2%) во 2-ой,  $p=0,014$ ).

Проведен анализ длительности пребывания в ОРИТН, длительности пребывания в стационаре, а также летальности среди новорожденных, включенных в исследование.

Длительность пребывания в ОРИТН новорожденных, включенных в исследование, составила 12 [9; 18,5] дней у детей с врожденной пневмонией против 8 [6; 12] дней у детей без таковой ( $p=0,000$ ).

Длительность пребывания в стационаре детей обеих групп статистически не различалась и составила 65 [56; 72] и 59 [45; 68] дней в группах соответственно.

Однако, после проведенного лечения в отделении выхаживания недоношенных детей II этапа стационара клиники некоторые пациенты нуждались в продолжении лечения в специализированных стационарах и были переведены в другие учреждения здравоохранения. Чаще всего это было пульмонологическое отделение. Таких детей было статистически значимо больше в группе с врожденной пневмонией: 27 (17,2%) детей из первой группы и только 8 (6,83%) из второй ( $p=0,01$ ).

В проведенном нами исследовании была проанализирована летальность и её структура среди обследованных пациентов. В группе детей с врожденной пневмонией умерло 27 (17,1%) детей, в то время как в группе без врожденной пневмонии – 8 (6,8%) ( $p=0,01$ ). Расчет отношения шансов показал, что наличие врожденной пневмонии увеличивает риск наступления летального исхода ( $OR=3,26$ , 95%-й ДИ 1,37–7,78).

В 1-ой группе 13 (48,1%) детей умерло в раннем неонатальном периоде, 7 (25,9%) детей – в позднем неонатальном периоде, 5 (18,5%) – в постнеонатальном периоде и 2 (7,4%) ребенка в возрасте старше года. Среди детей, умерших в неонатальном периоде, в 11 случаях причиной смерти была врожденная пневмония. У 8 детей основное заболевание было комбинированным и представлено двумя конкурирующими нозологиями: врожденная пневмония и внутричерепные кровоизлияния. В одном случае основное заболевание, повлекшее смерть – сепсис.

Во 2-ой группе по 2 (25,0%) ребенка умерло в раннем и позднем неонатальном периоде, 3 (37,5%) в постнеонатальном периоде, 1 (12,5%) ребенок в возрасте старше года. Среди 4 детей, умерших в неонатальном периоде основной причиной смерти были внутричерепные кровоизлияния, в двух случаях - в комбинации с РДС.

Таким образом, перенесенная врожденная пневмония оказывает неблагоприятное влияние на организм ребенка, увеличивая летальность при этом заболевании у данной категории пациентов. Это связано с тем, что ВП, возникшая в результате внутриутробного или интранатального инфицирования,

запускает ряд непосредственных и опосредованных эффектов на все органы и ткани [243].

Непосредственное воздействие связано с прямым действием возбудителя и/или его токсинов на клетки респираторного тракта у детей. Кроме того, у части обследованных детей пневмония являлась частью системного инфекционного процесса, и возбудитель действовал также и на другие органы и системы.

Опосредованные эффекты, по нашему мнению, могут быть связаны с запуском цитокинового механизма в результате инфекционного процесса и усугублением оксидативного стресса, причиной которого может быть, в том числе, перенесенная гипоксия, асфиксия в родах, проведение искусственной вентиляции легких, оксигенотерапия.

Повышенная выработка провоспалительных цитокинов вызывает констрикцию сосудов мозга, провоцирует искажение регуляции эндотелиального сосудистого фактора роста, что способствует формированию церебральной ишемии, ретинопатии недоношенных, принимает участие в развитии некротизирующего энтероколита, нарушает регуляцию кровотока в малом круге кровообращения и артериальном протоке и т. д. [301].

### **3.4 РЕЗУЛЬТАТЫ КАТАМНЕСТИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ, КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ И ИСХОДЫ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ У ДЕТЕЙ В ВОЗРАСТЕ ТРЕХ ЛЕТ, РОДИВШИХСЯ ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫМИ**

Врожденная пневмония оказывает большое влияние на здоровье глубоко недоношенных новорожденных не только в неонатальном и постнеонатальном периоде, но и в отдаленные периоды жизни. Поэтому необходимо длительное специализированное наблюдение за этими детьми [136, 137].

С целью последовательного оказания медицинской помощи глубоко недоношенным детям после выписки из стационара в ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова» МЗ РФ проводится наблюдение за этой

категорией пациентов до достижения ими 3-летнего возраста в кабинете катамнеза. Первый осмотр проводится через месяц после выписки из стационара, далее – 1 раз в 3 месяца до достижения возраста 2-х лет. С двух до трех лет – 1 раз в 6 месяцев. Частота приемов может быть изменена и зависит от состояния здоровья ребенка (физического, нервно-психического развития, неврологического и соматического). Кабинет катамнеза представляет собой «клинику одного дня»: обязательно ребенка осматривают педиатр и невролог, остальные специалисты (офтальмолог, аллерголог-иммунолог, оториноларинголог, генетик) – по показаниям. Дополнительные функциональные и лабораторные исследования проводят по показаниям. По результатам осмотров и обследований определяют тактику ведения ребенка. При необходимости детей направляют в специализированные стационары для лечения и реабилитации.

Среди детей, включенных в исследование, катамнестическое наблюдение проведено у 115 детей, что составляет 41,9%. Это связано с тем, что 35 детей умерли, 124 ребенка не наблюдались в кабинете катамнеза (в связи со сменой места жительства или проживанием в другом регионе). Таким образом, до 3-летнего возраста наблюдали 115 детей, из них 62 ребенка из 1-ой группы и 53 ребенка - из 2-ой группы.

Комплексная оценка состояния здоровья детей в возрасте 3 лет осуществлялась на основании следующих критериев [70]:

- 1) наличие хронических заболеваний, функциональных нарушений. При этом учитывается вариант и фаза течения выявленных отклонений;
- 2) уровень функционального состояния основных систем организма;
- 3) степень сопротивляемости организма неблагоприятным внешним воздействиям;
- 4) уровень достигнутого развития и степень его гармоничности.

### Результаты физического развития детей в 3 года

Физическое развитие ребенка – важный показатель общего состояния его здоровья. У большинства обследованных детей обеих групп (47 (75,8%) детей 1-ой группы, 44 (83,0%) детей 2-ой группы) физическое развитие соответствовало биологическому возрасту. Однако у детей, перенесших врожденную пневмонию, масса тела в возрасте 3-х лет была меньше и составила 12,3 [11,4; 13,3] кг, в то время как у детей без врожденной пневмонией – 13,0 [11,9; 14,0] кг,  $p=0,029$ . Длина тела у детей не различалась: 90 [88; 93] и 91,5 [87; 93] см в 1-ой и 2-ой группах соответственно. Кроме нормального физического развития, были выявлены его отклонения, представленные следующими вариантами в Таблице 25.

Таблица 25 – Варианты отклонений в физическом развитии у детей в возрасте 3 лет, родившихся глубоко недоношенными

Вариант отклонения	Группы обследованных детей		Достоверность различий, $p$
	1 группа n (% от общего числа отклонений)	2 группа n (% от общего числа отклонений)	
Сниженная масса при нормальной длине	3 (20,0%)	3 (33,3%)	$>0,05$
Низкая масса при нормальной длине	3 (20,0%)	0	$>0,05$
Нормальная масса при сниженной длине	2 (13,3%)	2 (22,2%)	$>0,05$
Сниженная масса при сниженной длине	2 (13,3%)	0	$>0,05$
Низкая масса при низкой длине	3 (20,0%)	4 (44,4%)	$>0,05$
Высокий рост	1 (6,7%)	0	$>0,05$
Низкий рост	1 (6,7%)	0	$>0,05$

Поскольку большинство детей имели нормальное физическое развитие, вероятно, дети получали адекватное вскармливание за время наблюдения. У некоторых детей отклонения в физическом развитии было обусловлено генетическими особенностями.

Полученные результаты о частоте отклонений от нормального физического развития – у 24,2% детей 1-ой группы и 16,9% детей 2-ой группы в возрасте 3-х лет – свидетельствуют о том, что дети с массой тела при рождении менее 1500 грамм зачастую показывают снижение показателей физического развития вплоть до 3-летнего возраста.

### **Результаты нервно-психического развития детей в 3 года.**

Оценку нервно-психического развития детей в 3 года проводили с учетом биологического возраста. В соответствии с приказом N 514н от 10 августа 2017 г. [70] нервно-психическое развитие оценивали по следующим критериям: познавательная и моторная функции, эмоциональная и социальная (контакт с окружающим миром) функции, речевое развитие. Для оценки НПР использовали методику Г.В. Пантюхиной, К.Л. Печоры, Л.Г.Голубевой [100].

У большинства детей была диагностирована I группа НПР (соответствующее возрасту) – у 35 (56,4%) детей 1-ой группы и 34 (64,2%) ребенка 2-ой группы ( $p>0,05$ ).

II группа НПР (задержка НПР на 1 эпикризный срок (6 месяцев)) была выявлена у 12 (19,4%) пациентов 1-ой группы и у 12 (22,6%) – из 2-ой ( $p>0,05$ ). Наиболее частой причиной отставания в НПР у детей со II группой НПР была задержка речевого развития.

III группа НПР (задержка в развитии на 2 эпикризных срока) имела место у 8 (12,9%) детей 1-ой группы и у 5 (9,4%) – из 2-ой.

Детей с IV группой НПР (задержка в развитии на 3 эпикризных срока) было меньшинство в обеих группах: 5 (8,1%) и 2 (3,8%) ребенка в группах соответственно,  $p>0,05$ . У двух детей (3,2%) 1-ой группы была задержка НПР



более, чем на 3 эпикризных срока. У этих детей был детский церебральный паралич. Моторное развитие этих детей по шкале GMFCS (оценка тяжести двигательных нарушений при ДЦП - Gross Motor Function Classification System) соответствовало 5 уровню. Некоторые исследователи таких детей выделяют в V группу НПП (Таблица 26).

Таблица 26 – Оценка нервно-психического развития у глубоконедоношенных детей в возрасте 3 года

Группы нервно- психического развития	Группы обследованных детей				Достоверность различий, р
	1 группа n=62		2 группа n=53		
	Абс.	%	Абс.	%	
I	35	56,4	34	64,2	0,38
II	12	19,4	12	22,6	0,59
III	8	12,9	5	9,4	0,49
IV	5	8,1	2	3,8	0,37

### **Исходы перинатальной патологии и инвалидизация у детей в возрасте 3 лет, родившихся глубоко недоношенными**

Основными специфическими проблемами, характерными для глубоко недоношенных детей, способными привести к инвалидизации, являются поражение нервной системы (кровоизлияния в желудочки мозга 3-4-й степени с формированием постгеморрагической гидроцефалии, перивентрикулярная лейкомаляция), дыхательной системы (бронхолегочная дисплазия), сенсорные нарушения (ретинопатия недоношенных с исходом в слепоту, глухота), а также другие состояния (открытый артериальный проток, некротизирующий энтероколит, нарушения обмена веществ, расстройства питания, сепсис).

Значительное влияние на качество жизни и состояние здоровья детей, родившихся глубоко недоношенными, оказывает бронхолегочная дисплазия [34]. В нашем исследовании БЛД была диагностирована чаще у пациентов 1-ой группы ( $p=0,0003$ ) и сформировалась у 26 (41,9%) пациентов. Инвалидность по данному

заболеванию на первом году жизни была установлена у 5 детей и снята в последующем. Поскольку БЛД характеризуется регрессом клинических проявлений по мере роста ребенка и созревания легочной ткани, то у детей с БЛД к возрасту трех лет устанавливают исход заболевания. Клиническое выздоровление по данной патологии было у 23 (88,5%) пациентов. У 3 пациентов в исходе БЛД сформировался рецидивирующий бронхит. Ретроспективный анализ показал, что все эти дети (с исходом БЛД в рецидивирующий бронхит) получили полный курс антенатальной профилактики РДС стероидами, эндотрахеальное введение сурфактанта. Однако двое из них сформировали классическую форму БЛД (им сурфактант вводился дважды).

Во 2-ой группе БЛД диагностирована лишь у 3 (11,3%) пациентов. У всех этих детей к 3-м годам отмечалось клиническое выздоровление этого заболевания.

Ретинопатия недоношенных угрожает формированием слепоты в следствие фиброваскулярной пролиферации незрелой сетчатки. У большинства детей, включенных в исследование, произошел регресс заболевания. При прогрессировании РН до пороговых стадий детям проводилась транспупиллярная лазерная коагуляция аваскулярных зон сетчатки с помощью лазерной установки Pascal. Только у двух (1,3%) детей 1 группы произошло дальнейшее прогрессирование заболевания, что потребовало добавочной лазерокоагуляции, у одного ребенка – витрэктомии. Проведенное катamnестическое исследование показало, что у этих двух пациентов в последующем развилась слепота: у одного пациента - одного глаза, у второго – обоих глаз.

У 2 детей 1-ой группы выявлена двухсторонняя нейросенсорная тугоухость III-IV степени, которая потребовала проведения операции кохлеарной имплантации на первом году жизни.

Среди детей, которые наблюдались в кабинете катamnеза, инвалидность в возрасте 3-х лет была установлена у 18 (15,6%) детей. Но среди детей 1-ой группы (перенесших врожденную пневмонию) инвалидность была установлена чаще – у

14 (22,6%) детей, тогда как во 2-ой группе инвалидность установлена 4 (7,5%) детям,  $p=0,027$ .

Структура инвалидности в 1-ой группе представлена: 1-ое место – болезни нервной системы (9 детей), 2-ое место – заболевания глаз (3 ребенка), 3 место – тугоухость (2 ребенка). Во 2-ой группе инвалидность представлена только болезнями нервной системы.

Анализ инвалидности по болезням нервной системы показал, что у всех детей после рождения были диагностированы церебральная ишемия II или III степени и внутрижелудочковые двусторонние кровоизлияния различной степени. У одного ребенка сформировалась постгеморрагическая гидроцефалия. У двоих детей был диагностирован бактериальный менингит.

#### **Уровень функционального состояния основных систем организма и степень сопротивляемости организма неблагоприятным внешним воздействиям обследованных детей в 3 года**

Анализ функционального состояния основных систем организма проводили путем сравнения показателей основных функциональных систем с нормативными параметрами (частота сердечных сокращений, частота дыхания, уровень артериального давления и т.д.).

Функциональное состояние может быть нормальным, если показатели соответствуют возрастным нормам. Ухудшенное функциональное состояние диагностируют, если некоторые показатели соответствуют нижней или верхней границе нормы). Плохое функциональное состояние - если показатели резко отличаются от возрастных норм. У большинства обследованных детей функциональное состояние было нормальным: 55 (88,7%) и 50 (94,3%) детей в 1-ой и 2-ой группах соответственно ( $p>0,05$ ). В 11,3% случаев в 1-ой группе и в 5,7% случаев во 2-ой группе функциональное состояние у детей было ухудшенным, что было связано с наличием анемии.

Степень сопротивляемости у детей определяли путем подсчета частоты острых заболеваний в течение одного года [100].

Степень сопротивляемости организма считается высокой, если острых заболеваний не было или их диагностируют 1 раз в год, протекают недолго и без осложнений. Средняя степень сопротивляемости – частота острых заболеваний до 2-3 раз в год. Сниженная сопротивляемость – 4-7 заболеваний в год. Резко сниженная сопротивляемость диагностируется, если количество острых заболеваний более 7 в год. Степень сопротивляемости обследованных детей представлена в Таблице 27.

Таблица 27 – Степень сопротивляемости обследованных детей в возрасте 3 года

Показатель	Группы обследованных детей		Достоверность различий, p
	1 группа	2 группа	
Высокая степень сопротивляемости	10 (16,1%)	13 (24,5%)	p>0,05
Средняя степень сопротивляемости	32 (51,6%)	25 (47,2%)	p>0,05
Сниженная степень сопротивляемости	16 (25,8%)	15 (28,3%)	p>0,05
Резко сниженная сопротивляемость	4 (6,5%)	-	p>0,05

На момент проведения исследования подавляющее большинство детей не посещали детское дошкольное учреждение. Возможно, в последующем, после начала посещения детского дошкольного учреждения, у детей этот критерий здоровья может измениться в худшую сторону.

### **Результаты комплексной оценки состояния здоровья глубоко недоношенных детей в 3 года**

Распределение детей по группам здоровья на основании полученных результатов представлено в Таблице 28.

Наше исследование показало, что не смотря на тяжесть состояния обследованных глубоко недоношенных детей при рождении, большое количество сочетанной патологии у каждого ребенка, их длительное лечение и реабилитация, к 3-летнему возрасту большинство детей были практически здоровыми, т.к. I и II группы здоровья включают детей без хронических заболеваний. Таких детей оказалось 37(59,7%) в 1-ой группе и 44(83,0%) – во 2-ой ( $p=0,007$ ).

Таблица 28 – Распределение детей, родившихся глубоко недоношенными с дыхательными нарушениями, по группам здоровья в трехлетнем возрасте

Группа здоровья	Группы обследованных детей		Достоверность различий, p
	1 группа n (%)	2 группа n (%)	
I группа	2 (3,2%)	3 (5,7%)	0,513
II группа	35 (56,5%)	41 (77,3%)	0,020
III группа	13 (20,9%)	4 (7,5%)	0,045
IV группа	4 (6,5%)	2 (3,8%)	0,519
V группа	8 (12,9%)	3 (5,7%)	0,193

I группа здоровья включает полностью здоровых детей, которые имеют нормальное физическое развитие и НПР, анатомических дефекты отсутствуют, нет морфофункциональных/функциональных нарушений. Таких детей было только 2 (3,2%) в 1-ой группе и 3 (5,7%) во 2-ой группе.

II группа здоровья включает детей также без хронических заболеваний. Но эти дети могут иметь незначительные морфофункциональные/функциональные нарушения, задержку физического развития, не обусловленную эндокринной патологией. В эту группу могут быть включены часто и/или длительно болеющие острыми респираторными заболеваниями дети. II группу здоровья имели более

половины детей, включенных в исследование, однако статистически значимо чаще дети из группы без врожденной пневмонии: 35 (56,5%) детей 1-ой группы и 41 (77,3%) ребенок 2-ой группы,  $p=0,0198$ .

III группу здоровья диагностируют у детей с хроническими заболеваниями в стадии клинической ремиссии, с редкими обострениями, с сохраненными или компенсированными функциями органов и систем организма. Осложнения основного заболевания при этом отсутствуют. Эта группа здоровья была чаще диагностирована у детей 1-ой группы – у 13 (20,9%) пациентов, против 4 (7,5%) детей во 2-ой группе,  $p=0,045$ .

У детей с хроническими заболеваниями в активной стадии, а также в стадии нестойкой ремиссии, с частыми обострениями, с сохраненными или компенсированными функциями органов и систем организма либо не полной компенсацией функций диагностируют IV группу здоровья. Эта группа здоровья была у 5 (8,1%) пациентов 1-ой группы и у 2 (3,8%) - из 2-ой,  $p>0,05$ .

V группу здоровья устанавливают у детей с тяжелыми хроническими заболеваниями с частыми обострениями, редкими ремиссиями, непрерывно рецидивирующим течением, выраженной декомпенсацией функций органов и систем организма, наличием осложнений, требующих назначения постоянного лечения. Эта группа здоровья была у 8 (12,9%) пациентов 1-ой группы и у 3 (5,7%) детей 2-ой группы,  $p>0,05$ .

Однако наличие V группы здоровья не всегда говорит о тяжелом состоянии ребенка. Поскольку эта группа здоровья может быть установлена ребенку, который имеет нормальное физическое развитие, I или II группу НПР, высокую или среднюю степень сопротивляемости организма, но наличие того или иного заболевания в соответствии с алгоритмом определения групп здоровья у детей в возрасте от 3 до 17 лет включительно (по результатам профилактических медицинских осмотров), утвержденных приказом Минздрава России от 30.12.2003 г. № 621, соответствует V группе здоровья. В нашем исследовании таких детей было двое. Эти дети имели инвалидность по тугоухости. Данный диагноз был выставлен своевременно, вовремя установлен кохлеарный имплант.

Дети социально адаптированы, имеют нормальное физическое развитие, II группу НПР, однако наличие тугоухости с кохлеарным имплантом предполагает V группу здоровья.

Таким образом, среди всех детей, включенных в исследование, в возрасте 3-х лет, более чем в 75% случаев дети имеют нормальное физическое развитие, более 55% – I группу нервно-психического развития и более 55% – II группу здоровья.

У детей I группы, перенесенная врожденная пневмония является негативным фактором в формировании отдаленных последствий: такие дети к возрасту 3-х лет чаще имеют III группу здоровья, а также более высокие показатели инвалидности.

Среди всех детей, включенных в исследование, 35 пациентов умерло, 9 детей к 3-летнему возрасту имели инвалидность со стойким нарушением здоровья. Кроме летального исхода, к неблагоприятному исходу мы отнесли формирование инвалидности со стойким нарушением здоровья. Стойкое нарушение здоровья у детей представляет собой полную утрату ребенком в будущем возможности самообслуживания и отсутствие реабилитационного потенциала.

При анализе анамнестических и клинических параметров нами были выявлены факторы риска развития неблагоприятного исхода (летальный исход, формирование инвалидности со стойким нарушением здоровья), среди которых мы провели ранжирование (Таблица 29).

Значимыми факторами развития неблагоприятного исхода (летальный исход, формирование инвалидности со стойким нарушением здоровья) у детей, родившимися глубоко недоношенными, к 3-летнему возрасту являются: ГЗ ФАП, дыхательная недостаточность III степени, длительный безводный период, ЭНМТ, врожденная пневмония, тяжелая интранатальная асфиксия.

Таблица 29 – Факторы риска развития неблагоприятного исхода у детей к 3-летнему возрасту

Фактор риска	Отношение шансов OR (95% ДИ)	Достоверность различий, p
ГЗ ФАП	4,39 (1,27–15,12)	0,01
Дыхательная недостаточность III ст	4,26 (2,06–8,83)	0,000
Длительный безводный период	3,45 (1,43–8,29)	0,004
ЭНМТ	3,24 (1,54–6,82)	0,001
Врожденная пневмония	3,11 (1,44–6,72)	0,003
Тяжелая асфиксия при рождении	2,44 (1,2–4,96)	0,01

Разработана автоматизированная интеллектуальная программа прогнозирования наступления неблагоприятного исхода (летальный исход, формирование инвалидности со стойким нарушением здоровья) у глубоко недоношенных детей. Действие системы основано на принципах работы нейросетевых обучаемых технологий. Программа анализирует клиничко-анамнестические данные: наличие/отсутствие врожденной пневмонии, срок гестации, наличие/отсутствие длительного безводного периода, оценка по шкале Апгар в конце 1 и 5 минуты жизни, оценка по шкале Сильверман, параметры физического развития при рождении (масса тела, длина, окружность головы и груди), наличие/отсутствие ЭНМТ, длительность ИВЛ в часах, наличие/отсутствие ГЗ ФАП.

На разработанную компьютерную программу «Прогнозирование развития неблагоприятного исхода у глубоконедоношенных новорожденных (нейронная сеть)» получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021663180 от 12.08.2021. Программа предназначена для использования в стационаре врачами ОРИТН, неонатологами отделения выхаживания



недоношенных детей, на амбулаторном этапе поликлиническими педиатрами, а также педиатрами, осуществляющих катamnестическое наблюдение для определения вероятности развития неблагоприятного исхода у глубоко недоношенных детей с целью проведения дополнительного обследования и профилактических мероприятий у этих пациентов.

В первом модуле производится обучение программной модели нейронной сети на заданном множестве образов (Рисунок 1).

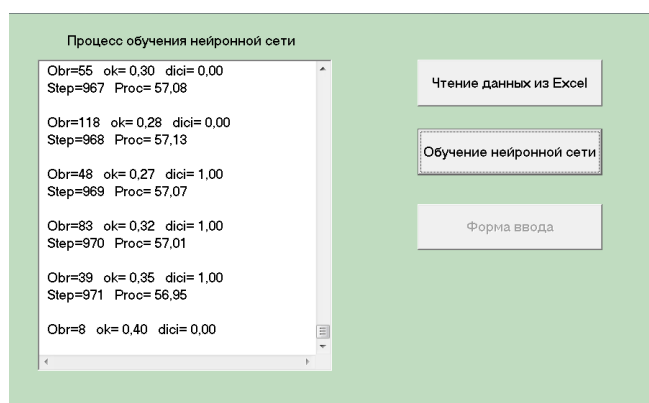


Рисунок 1 – Экранная форма программы – обучение нейронной сети

После обучения на интерфейсной форме активируется опция вызова рабочего режима программы («форма ввода») (Рисунок 2).

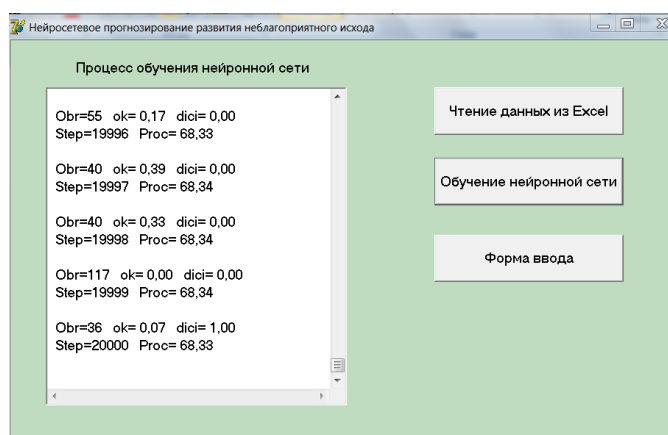


Рисунок 2 – Экранная форма программы – форма ввода

На интерфейсной форме рабочего режима предусмотрены поля для ввода соответствующих параметров, полученных при сборе анамнеза и обследовании новорожденного. Для таких факторов риска как «Врожденная пневмония», «Длительный безводный период», «ЭНМТ», «ГЗ ФАП» используют оценку «да» или «нет» в соответствии с наличием или отсутствием фактора («нет» – отсутствует, «да» – фактор присутствует). Для показателей «Срок гестации», «Апгар 1» (оценка по шкале Апгар в конце первой минуты жизни), «Апгар2» (оценка по шкале Апгар в конце пятой минуты жизни), «Silverman» (оценка тяжести дыхательной недостаточности по шкале Сильверман), «Масса», «Длина», «Окружность головы», «Окружность груди», «Длительность ИВЛ в часах» – вводят конкретные числовые значения. После заполнения полей выдается оценка риска развития неблагоприятного исхода у глубоко недоношенных новорожденных.

При получении оценки менее 0,5 прогнозируется низкий риск наступления неблагоприятного исхода, при этом достоверность результата выше, если оценка ближе к 0 (Рисунок 3).

Рисунок 3 – Пример оценки риска (низкий риск) развития неблагоприятного исхода.

При получении оценки более 0,5 прогнозируется высокий риск наступления неблагоприятного исхода (летальный исход или формирование инвалидности со

стойким нарушением здоровья), при этом достоверность результата выше, если оценка ближе к 1 (Рисунок 4).

Форма ввода данных

Идентификатор пациента: 1

Вр. пневм. да

Ср. гест. 38

Дл. безв. п. да

аггар 1 8

аггар 2 7

Silverman 8

Масса 1180

Длина 33

Окружность головы 35

Окружность груди 22

ЭНМТ нет

Длит ИВЛ в час 214

ГЗ ФАП нет

Результаты прогноза

Запись 1

Пациент 1 Высокий риск наступления неблагоприятного исхода 0.972311605435091

Project1

Высокий риск наступления неблагоприятного исхода

ОК

Оценка

Рисунок 4 – Пример оценки риска (высокий риск) развития неблагоприятного исхода.

Разработанная программа позволяет прогнозировать риск наступления неблагоприятного исхода и персонализировано подходить к назначению дополнительного обследования, лечению пациентов и проведению профилактических мероприятий.

Таким образом, врожденная пневмония влияет на показатели здоровья, ухудшая их и увеличивая летальность не только в неонатальном и в постнатальном периоде, но и в течение первых трех лет жизни.

## **ГЛАВА 4. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПНЕВМОПРОТЕИНОВ В РАЗВИТИИ ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИИ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ**

Пневмопротеины – специфические белки эпителия легкого, вырабатываемые преимущественно эпителиальными клетками этого органа [344]. Представителями пневмопротеинов являются сурфактантный белок Д и белок клеток Клара. Содержание данных протеинов было исследовано у 106 пациентов, включенных в исследование: у 65 детей 1-ой группы (с врожденной пневмонией) и у 41 ребенка 2-ой группы (без врожденной пневмонии). Определение концентрации белков проводили на 3-й день жизни в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и периферической венозной крови; в возрасте 1 месяц концентрацию пневмопротеинов в крови определяли повторно. В настоящее время отсутствуют данные о референтных интервалах этих белков у глубоко недоношенных новорожденных.

### **4.1. ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СУРФАКТАНТНОГО ПРОТЕИНА Д В БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОЙ ЛАВАЖНОЙ ЖИДКОСТИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

По результатам биохимических исследований определены концентрации сурфактантного протеина D и белка клеток Клара в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и сыворотке крови у обследованных детей.

Значения СП-D у глубоко недоношенных новорожденных с верифицированной врожденной пневмонией представлены в Таблице 30. Концентрация сурфактантного протеина D в лаважной жидкости у глубоко недоношенных новорожденных, у которых сформировалась врожденная пневмония, составила 617,84 [279,26; 842,02] нг/мл с 95% доверительным интервалом от 176,66 до 1189,43 нг/мл. В сыворотке крови на 3-й день жизни

концентрация СП-D составила 242,98 [180,4;518,87] нг/мл (95% доверительный интервал от 125,35 до 899,2 нг/мл), в конце 1 месяца жизни – 187,61 нг/мл (95% доверительный интервал от 113,17 до 342,93 нг/мл).

Таблица 30 – Содержание сурфактантного протеина D у глубоко недоношенных новорожденных с врожденной пневмонией, нг/мл

Биологическая жидкость	Содержание сурфактантного протеина D, нг/мл				
	2,5%	25%	Me	75%	97,5%
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость	176,66	279,26	617,84	842,02	1189,43
Сыворотка крови, 3-й д.ж.	125,35	180,4	242,98	518,87	899,2
Сыворотка крови, 1 месяц	113,17	160,0	187,61	236,32	342,93

Значения сурфактантного протеина D у глубоко недоношенных новорожденных без врожденной пневмонии представлены в Таблице 31.

Таблица 31 – Содержание сурфактантного протеина D у глубоко недоношенных новорожденных без врожденной пневмонии, нг/мл

Биологическая жидкость	Содержание сурфактантного протеина D, нг/мл				
	2,5%	25%	Me	75%	97,5%
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость	157,4	160,2	204,5	248,93	313,44
Сыворотка крови, 3-й д.ж.	123,3	123,45	146,74	183,92	303,3
Сыворотка крови, 1 месяц	84,09	123,6	129,02	133,2	175,54

Концентрация этого белка в бронхоальвеолярной лаважной жидкости у новорожденных этой группы составила 204,5 [160,2; 248,93] нг/мл с 95% доверительным интервалом от 157,4 до 313,44 нг/мл.

В сыворотке крови на 3-ий день жизни содержание сурфактантного протеина D составило 146,74 [123,45;183,92] нг/мл (95% доверительный интервал от 12,32 до 323,3 нг/мл), в конце 1 месяца жизни – 129,02 нг/мл [123,6; 133,2] (95% доверительный интервал от 84,09 до 175,54 нг/мл).

При сравнении полученных результатов между исследуемыми группами мы получили статистически значимые различия по содержанию сурфактантного протеина D как в сыворотке крови, так и бронхоальвеолярной лаважной жидкости [123, 124, 135].

Концентрация СП-D у детей с врожденной пневмонией в БАЛЖ составила 617,84 [279,26; 842,02] нг/мл, что статистически значимо больше, чем у детей без таковой - 204,5 [160,2; 248,93] нг/мл, ( $p=0,01$ ) (Таблица 32). Учитывая, что основная роль СП-D – участие в антиинфекционной защите легких, можно предположить, что увеличение его содержания у детей с врожденной пневмонией связано с усилением местного иммунитета, сопровождающееся повышенной продукцией СП-D в ответ на действие инфекционных патогенов и развитие воспалительного процесса в бронхолегочной системе.

В сыворотке крови у детей с врожденной пневмонией содержание СП-D (242,98 [180,4;518,87] нг/мл) также оказалось больше, чем у пациентов без врожденной пневмонии (146,74 [123,45; 183,92] нг/мл) ( $p=0,000$ ) (Таблица 32).

В нормальных условиях сурфактантный протеин D за пределами легочной ткани не появляется. Его обнаружение в крови связано с нарушением целостности альвеолярно-капиллярной мембраны, которое возможно, как при ВП, так и при РДС.

Таблица 32 – Содержание сурфактантного протеина D у обследованных новорожденных

Биологическая жидкость	Группы обследованных детей		Достоверность различий, p
	1 группа нг/мл	2 группа нг/мл	
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость	617,84 [279,26; 842,02]	204,5 [160,2; 248,93]	0,01
Сыворотка крови, 3-й день жизни	242,98 [180,4; 518,87]	146,74 [123,45; 83,92]	0,000
Сыворотка крови, 1 месяц жизни	187,61 [160,0; 236,32]	129,02 [123,6; 133,2]	0,055

У детей с врожденной пневмонией, мы предполагаем, было более выраженное повреждение альвеолярно-капиллярной мембраны за счет инфекционного компонента, а также механического в результате проведения ИВЛ, поскольку у детей с врожденной пневмонией статистически значимо чаще применялись более агрессивные параметры ИВЛ. Это обусловило больший выход сурфактантного протеина D в системный кровоток у детей 1-ой группы, в сравнении с детьми 2-ой группы. Похожие данные были получены в исследовании Dahl M с соавт (2006), в котором было выявлено более высокое содержание СП-D в пуповинной и капиллярной крови недоношенных новорожденных с высоким риском инфицирования [352].

Проведенный корреляционный анализ у детей с врожденной пневмонией между содержанием СП-D в сыворотке крови на 3-й день жизни и индексом оксигенации ( $r=0,73$ ,  $p=0,02$ ) подтвердил наше предположение о более выраженном повреждении альвеолярно-капиллярной мембраны. Индекс оксигенации рассчитывали всем детям, получающим респираторную протекцию. Он является достаточно чувствительным индикатором тяжести заболевания легких и агрессивности респираторной поддержки [63].

Мы предположили, что концентрация сурфактантного протеина D зависит не только от наличия/отсутствия локального воспалительного процесса в легких, но и от массы тела при рождении. Статистически значимые различия мы получили только в 1-й группе: у детей с ЭНМТ содержание сурфактантного протеина D как в лаважной жидкости, так и в сыворотке крови было статистически значимо меньше, чем у детей с ОНМТ (Таблица 33).

Таблица 33 – Содержание сурфактантного протеина D у детей с врожденной пневмонией в зависимости от массы тела при рождении

Биологическая жидкость	Содержание сурфактантного протеина D, нг/мл		Достоверность различий, p
	ЭНМТ	ОНМТ	
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость	287,08 [214,74; 716,81]	829,4 [620,85; 1011,49]	0,01
Сыворотка крови, 3-й день жизни	194,86 [165,75; 406,23]	469,16 [180,5; 680,0]	0,02
Сыворотка крови, 1 месяц жизни	180,09 [125,98; 205,49]	236,32 [160,0; 262,31]	0,42

По нашему мнению, более низкое содержание СП-D в лаважной жидкости и сыворотке крови на 3-й день жизни связано с более выраженной незрелостью легочной ткани у пациентов с экстремально низкой массой тела при рождении и неспособностью альвеолоцитов 2-го порядка вырабатывать СП-D в достаточном количестве для противомикробной защиты, поскольку у детей с ЭНМТ гестационный возраст был статистически значимо меньше ( $p=0,000$ ) и составил 27 [26; 28] недель, чем у детей с ОНМТ, чей гестационный возраст составил 30 [29; 31] недель. Кроме того, проведенный корреляционный анализ выявил



положительную корреляционную связь между гестационным возрастом ребенка и содержанием сурфактантного протеина D в лаважной жидкости ( $r=0,49$ ,  $p=0,02$ ).

Поскольку в группе детей с врожденной пневмонией меньший гестационный возраст был сопряжен с меньшим содержанием СП-D на 3-й день жизни в лаважной жидкости и сыворотки крови, то мы предположили связь содержания сурфактантного протеина D с исходом врожденной пневмонии. Бронхолегочная дисплазия сформировалась у 12 пациентов этой группы. Концентрация СП-D как в лаважной жидкости, так и в сыворотке крови на 3-й д.ж. у детей со сформировавшейся БЛД было статистически значимо меньше, чем у пациентов, без БЛД (Таблица 34).

Таблица 34 – Концентрация сурфактантного протеина D у детей в зависимости от исхода врожденной пневмонии

Биологическая жидкость	БЛД	Выздоровление	Достоверность различий, p
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость	278,17 [213,73; 432,0]	777,39 [667,89; 950,49]	0,004
Сыворотка крови, 3-й д.ж.	180,4 [141,6; 242,98]	469,16 [190,19; 574,8]	0,019
Сыворотка крови, 1 месяц	172,02 [125,98; 180,09]	205,49 [160,0; 262,31]	0,21

Проведенный корреляционный анализ также подтвердил полученные данные и выявил отрицательные взаимосвязи между уровнем СП-D в лаважной жидкости и формированием БЛД ( $r=-0,66$ ,  $p=0,001$ ), а также уровнем СП-D в крови на 3 д.ж. и формированием БЛД ( $r=-0,48$ ,  $p=0,026$ ). При этом степень зависимости формирования БЛД от уровня СП-D в лаважной жидкости и крови на 3 д.ж. не различалась.

Учитывая антиинфекционную роль сурфактантного протеина D в защите легких, увеличение содержания этого протеина связано с увеличением выработки данного белка и является защитным механизмом. У детей из группы с врожденной пневмонией со сформировавшейся БЛД, данный механизм отсутствует, что вероятно связано повреждением клеток респираторного эпителия еще антенатально или генетически обусловлено. Таким образом, выраженная незрелость легочной ткани, обусловленная недоношенностью, наличие местного инфекционного процесса, сопровождающийся низкой выработкой защитного сурфактантного протеина D, способствуют формированию хронического заболевания легких - БЛД.

На основании полученных результатов корреляционного анализа было выдвинуто предложение, что концентрация сурфактантного протеина D в лаважной жидкости, продемонстрировавшая связь с формированием бронхолегочной дисплазии у новорожденных с врожденной пневмонией, может быть использована в качестве потенциального биохимического предиктора в прогнозировании исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных детей. Был проведен ROC-анализ значимости содержания сурфактантного протеина D в бронхоальвеолярной лаважной жидкости в прогнозировании исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных.

Концентрация сурфактантного протеина D в бронхоальвеолярной лаважной жидкости оказалась статистически значимой в прогнозировании исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных. Расчёт оптимального порогового значения концентрации исследуемого белка при прогнозировании исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных представлен на Рисунке 5.

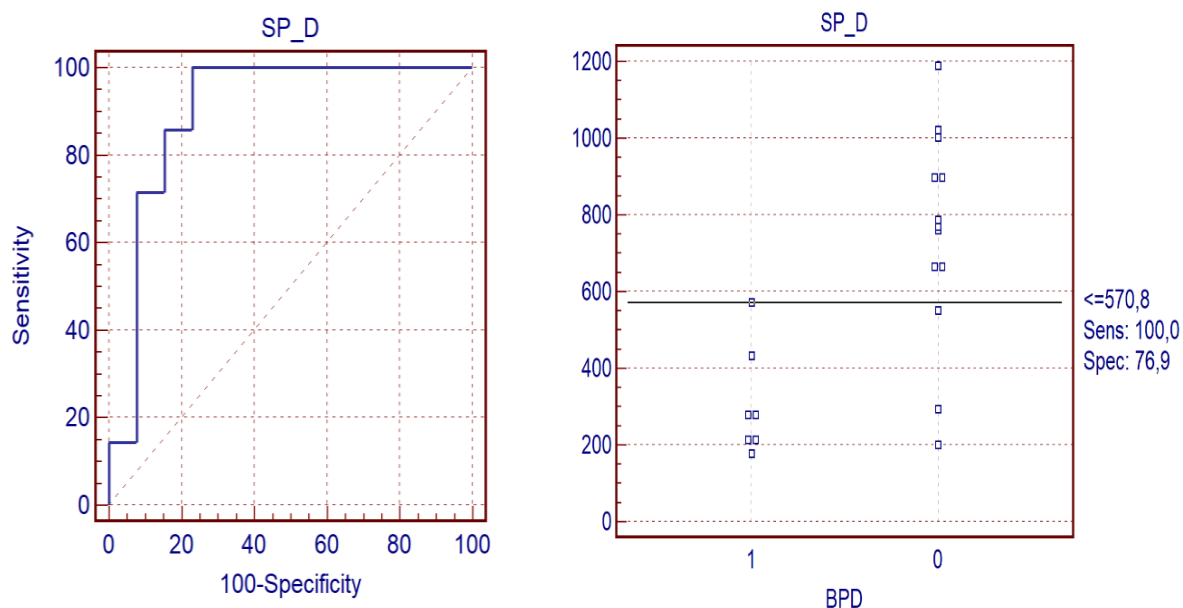


Рисунок 5 – ROC-кривая прогностической значимости и оптимальное пороговое значение концентрации сурфактантного протеина D в лаважной жидкости в прогнозировании исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных

По координатным точкам кривой было определено пороговое значение СП-D в лаважной жидкости 570,8 нг/мл, при снижении которого прогноз неблагоприятного исхода врожденной пневмонии, а именно формирование бронхолегочной дисплазии, у глубоко недоношенных новорожденных осуществлялся с диагностической чувствительностью 100,0% и специфичностью 76,9%.

Параметры диагностической способности модели прогнозирования исходов врожденной пневмонии по содержанию сурфактантного протеина D в лаважной жидкости в качестве предиктора представлены в Таблице 35.

Прогностическая значимость может быть определена как отличная, согласно шкале экспертной оценки AUC.

Таблица 35 – Показатели диагностической значимости СП-D в лаважной жидкости при прогнозировании исходов врожденной пневмонии

Площадь AUC	Стандартная ошибка	Асимптотический 95% доверительный интервал	
		Нижняя граница	Верхняя граница
0,901	0,069	0,684	0,985

Анализ концентрации сурфактантного протеина D в сыворотке крови в 1 месяц жизни выявил, что у детей 1-ой группы происходило статистически значимое ее снижение по сравнению с исходной ( $p=0,01$ ). Это связано с постепенным восстановлением альвеолярно-капиллярной мембраны за счет удаления инфекционных патогенов. Кроме того, проводимая респираторная поддержка к возрасту 1 месяц становилась менее агрессивной или прекращалась, что также способствовало восстановлению альвеолярно-капиллярного барьера (Рисунок 6). У детей с РДС также отмечалось снижение концентрации данного белка к концу 1 месяца жизни, однако статистически значимой разницы выявлено не было.

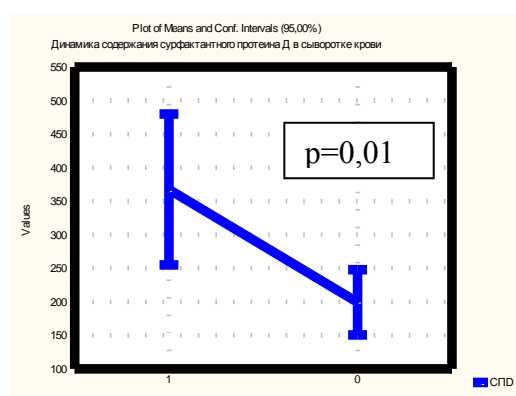


Рисунок 6 – Динамика содержания сурфактантного протеина D в сыворотке крови у новорожденных с врожденной пневмонией в неонатальном периоде (1 – на 3 день жизни, 0 – в 1 месяц жизни).

Персональная оценка динамики концентрации СП-D в сыворотке крови у пациентов 1-ой группы выявила, что статистически значимое снижение концентрации сурфактантного протеина D было неодинаковым в группе и зависело от исхода заболевания. У детей с выздоровлением от врожденной пневмонии происходило статистически значимое снижение содержания данного белка: с 469,16 нг/мл на 3 д.ж до 205,49 нг/мл в 1 месяц жизни ( $p=0,01$ ). У детей с формирующейся БЛД, такой динамики не отмечалось: 180,4 нг/мл на 3 д.ж. против 172,02 нг/мл в 1 месяц жизни, что свидетельствует о сохраняющихся нарушениях в альвеолярно-капиллярной мембране.

#### **4.2 ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА КЛЕТОК КЛАРА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОЙ ЛАВАЖНОЙ ЖИДКОСТИ**

В результате нами проведенного исследования мы получили данные по содержанию белка клеток Клара на 3-й день жизни в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и сыворотке крови, а также в 1 месяц жизни в сыворотке крови у детей обеих группах. Также были получены статистически значимые различия между исследуемыми группами по содержанию этого протеина как в неонатальном периоде, так и в 1 месяц жизни [49, 122].

Значения БКК у пациентов группы с врожденной пневмонией показаны в Таблице 36. Концентрация этого белка в бронхоальвеолярной лаважной жидкости у пациентов с врожденной пневмонией составила 117,95 [70,8; 130,7] нг/мл с 95% доверительным интервалом от 60,3 до 290,0 нг/мл.

В сыворотке крови на 3-й день жизни содержание БКК составило 2,72 [1,45; 4,35] нг/мл (95% доверительный интервал от 1,06 до 10,5 нг/мл), в конце 1-го месяца жизни – 0,87 [0,38; 1,32] нг/мл (95% доверительный интервал от 0,03 до 2,59 нг/мл).

Таблица 36 – Содержание белка клеток Клара у глубоко недоношенных новорожденных с врожденной пневмонией, нг/мл

Биологическая жидкость	Содержание белка клеток Клара, нг/мл.				
	2,5%	25%	Ме	75%	97,5%
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость	60,3	70,8	117,95	130,7	290,0
Сыворотка крови, 3-й д.ж.	1,06	1,45	2,72	4,35	10,5
Сыворотка крови, 1 месяц	0,03	0,38	0,87	1,32	2,59

Содержание БКК у детей без врожденной пневмонии в лаважной жидкости составило 70,25 [69,26; 80,29] нг/мл с 95% доверительным интервалом от 50,3 до 90,98 нг/мл. В сыворотке крови на 3-ий день жизни содержание БКК составило 1,98 [0,9;2,33] нг/мл (95% доверительный интервал от 0,34 до 4,34 нг/мл), в конце 1-го месяца жизни – 0,62 [0,23; 0,79] нг/мл (95% доверительный интервал от 0,17 до 0,82 нг/мл) (Таблица 37).

Таблица 37 – Содержание белка клеток Клара у глубоко недоношенных новорожденных без врожденной пневмонии, нг/мл

Биологическая жидкость	Содержание белка клеток Клара, нг/мл.				
	2,5%	25%	Ме	75%	97,5%
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость	50,3	69,26	70,25	80,29	90,98
Сыворотка крови, 3-й д.ж.	0,34	0,9	1,98	2,33	4,34
Сыворотка крови, 1 месяц	0,17	0,23	0,62	0,79	0,82

При проведении анализа концентрации белка клеток Клара между группами было выявлено, что содержание этого белка как в БАЛЖ, так и в сыворотке крови было статистически значимо больше у детей с врожденной пневмонией (Таблица 38).

Таблица 38 – Содержание белка клеток Клара у обследованных новорожденных

Биологическая жидкость	Группы обследованных детей		Достоверность различий, p
	1 группа (с врожденной пневмонией) нг/мл	2 группа (без врожденной пневмонии) нг/мл	
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость	117,95 [70,8; 130,7]	70,25 [69,26; 80,29]	0,041
Сыворотка крови, 3-й день жизни	2,72 [1,45; 4,35]	1,98 [0,9; 2,33]	0,018
Сыворотка крови, 1 месяц жизни	0,87 [0,38; 1,32]	0,62 [0,23; 0,79]	0,38

Учитывая, что одна из основных функций исследуемого протеина – противовоспалительная и иммуномодулирующая, вероятно, что увеличение синтеза БКК происходит в ответ на инфекционно-воспалительный процесс в легочной паренхиме у детей с врожденной пневмонией.

В динамике неонатального периода у детей обеих групп происходило статистически значимое снижение концентрации БКК в сыворотке крови в 1 месяц жизни, по сравнению с исходной (на 3-ий день жизни) (Рисунок 7).

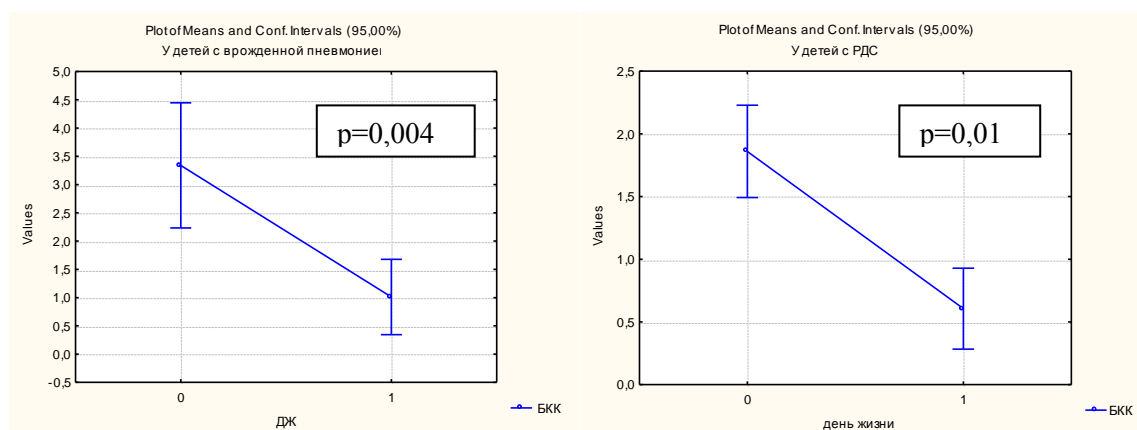


Рисунок 7 – Содержание белка клеток Клара в сыворотке крови в динамике неонатального периода (0 – на 3 день жизни, 1 – в 1 месяц жизни)

Мы предположили, что у детей с ЭНМТ, по сравнению с детьми с ОНМТ, содержание белка клеток Клара будет меньше (как в случае с содержанием сурфактантного протеина D). Однако, индивидуальный анализ концентрации БКК у детей с врожденной пневмонией в зависимости от массы тела при рождении не показал статистически значимых различий, хотя содержание этого протеина в сыворотке крови было в 1,8 раза ниже, чем у детей с ОНМТ (Таблица 39).

Таблица 39 – Концентрация белка клеток Клара у глубоко недоношенных детей с врожденной пневмонией в зависимости от массы тела при рождении

Биологическая жидкость	Концентрация белка клеток Клара, нг/мл		Достоверность различий, р
	ЭНМТ	ОНМТ	
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость	114,7 [90,4; 168,4]	125,3 [66,9; 130,7]	0,44
Сыворотка крови на 3-й д.ж.	2,05 [1,36; 3,89]	3,75 [1,98; 4,65]	0,74

Содержание белка клеток Клара на 3-й день жизни как в лаважной жидкости, так и в сыворотке крови в группе детей с врожденной пневмонией было ассоциировано с исходом заболевания. У пациентов со сформировавшейся в последующем БЛД концентрация этого белка была ниже, чем у детей, выздоровевших от врожденной пневмонии (Таблица 40).

Данное исследование показало, что высокая концентрация БКК на 3-й день жизни в лаважной жидкости и сыворотке крови у детей с врожденной пневмонией имеет протективное значение, а ее снижение способствует формированию БЛД.



Таблица 40 – Содержание белка клеток Клара у новорожденных с врожденной пневмонией в зависимости от исхода заболевания

Биологическая жидкость	Содержание белка клеток Клара, нг/мл		Достоверность различий, p
	БЛД	Выздоровление	
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость	35,18 [28,2; 67,0]	129,8 [101,8; 130,8]	0,035
Сыворотка крови, 3-й день жизни	1,45 [1,35; 2,12]	3,75 [2,98; 4,35]	0,01
Сыворотка крови, 1 месяц	0,41 [0,38; 0,97]	1,01 [0,036; 2,59]	0,42

По результатам исследования был разработан способ прогнозирования бронхолегочной дисплазии у детей с врожденной пневмонией по концентрации белка клеток Клара на 3-й день жизни в бронхоальвеолярной лаважной жидкости [81]. При его концентрации менее 53 нг/мл прогнозируют формирование бронхолегочной дисплазией у детей с врожденной пневмонией. Чувствительность способа составила 80,6%, специфичность 80,0%, точность - 80,4%. Полученные данные можно использовать лечащему доктору для изменения подходов к терапии пациента с целью улучшения исходов и снижения летальности глубоко недоношенных детей с врожденной пневмонией. Учитывая, что в настоящее время разработан рекомбинантный белок клеток Клара, возможно, полученные нами данные можно будет использовать в качестве показаний для его эндотрахеального введения детям с целью профилактики формирования БЛД.

Таким образом, наше исследование показало включение защитного механизма в виде повышенной выработки пневмопротеинов (сурфактантного протеина D и белка клеток Клара) у детей с врожденной пневмонией, поскольку одна из основных функций этих белков – противовоспалительная. Это отражается в более высоком содержании пневмопротеинов в лаважной жидкости у детей с врожденной пневмонией, в сравнении с детьми без врожденной

пневмонии. Поскольку у глубоко недоношенных детей имеется повышенная порозность альвеолярнокапиллярной мембраны, это способствует выходу изучаемых белков за пределы легочной ткани в системный кровоток. У детей с врожденной пневмонией порозность альвеолярнокапиллярной мембраны больше, что подтверждается более высоким содержанием как белка клеток Клара, так и сурфактантного протеина D в сыворотке крови. В возрасте 1 месяца жизни у детей 1-ой группы отмечалось значительное снижение содержания пневмопротеинов в сыворотке крови, что обусловлено, по нашему мнению, как снижением выработки данных протеинов (в связи с элиминацией инфекционных патогенов на фоне лечения), так и восстановлением альвеолярно-капиллярного мембраны. У детей с врожденной пневмонией, осложнившейся в последующем БЛД, отмечено отсутствие данного защитного механизма (в виде повышения выработки пневмопротеинов), т.к. у этих пациентов концентрация СП-D и БКК на 3-й д.ж. была самой низкой.

## **ГЛАВА 5. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КАТЕЛИЦИДИНА LL 37 И СЕКРЕТОРНОЙ ФОСФОЛИПАЗЫ А 2 В РАЗВИТИИ ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИИ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ**

Иммунная система организма новорожденного ребенка в условиях постнатальной адаптации является интегрирующей и ответственной за сохранение его гомеостаза. Значительное место в работе иммунной системы занимают антимикробные пептиды (представителем которых является кателицин LL37), имеющие свойства антибиотиков, представляя собой неспецифические факторы гуморального иммунитета. В развитии воспалительного процесса значительную роль играют и фосфолипазы А2, которые запускают синтез липидных регуляторов при воспалительной реакции (медиаторов воспаления, таких как простагландины, лейкотриены, тромбоксаны, а также фосфолипидного фактора активации тромбоцитов). Их активность в воспалительном очаге определяет характер течения патологического процесса. Представителем фосфолипаз является секреторная фосфолипаза А2 (человека, тип ПА) (sPLA2).

Нами было проведено иммунологическое обследование взятых под наблюдение новорожденных из 1-ой группы (с врожденной пневмонией) (n=61) и 2-ой группы (без врожденной пневмонии) (n=43). Определение уровня КЦ LL 37 и sPLA2 проводили на 1-й день жизни в фарингеальном аспирате и сыворотке крови. Также, в сыворотке крови содержание КЦ LL 37 определяли в 1 месяц жизни.

### **Диагностическое и прогностическое значение содержания кателицина LL 37 в фарингеальном аспирате и сыворотке крови у глубоко недоношенных новорожденных**

В результате проведенного исследования мы получили данные по содержанию кателицина LL 37 в фарингеальном аспирате и сыворотке крови в 1-ые сутки жизни, а также в сыворотке крови в 1 месяц жизни у детей в обеих

группах [121].

Значения КЦ LL37 у пациентов с врожденной пневмонией представлены в Таблице 41. Концентрация кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате у глубоко недоношенных новорожденных, у которых сформировалась врожденная пневмония, составила 10,14 [7,18; 19,02] нг/мл с 95% интервалом от 1,34 до 39,05 нг/мл. Содержание этого протеина в 1 день жизни в сыворотке крови составило 1,52 [0,31;4,38] нг/мл (95% доверительный интервал от 0,19 до 15,4 нг/мл), в 1 месяц жизни – 6,87 [4,05;14,55] нг/мл (95% доверительный интервал от 2,98 до 22,27 нг/мл).

Таблица 41 – Содержание кателицидина LL37 у глубоко недоношенных новорожденных с врожденной пневмонией, нг/мл

Биологическая жидкость	Содержание кателицидина LL37, нг/мл				
	2,5%	25%	Ме	75%	97,5%
Фарингеальный аспират	1,34	7,18	10,14	19,02	39,05
Сыворотка крови, 1-ый день жизни	0,19	0,31	1,52	4,38	15,42
Сыворотка крови, 1 месяц	2,98	4,05	6,87	14,55	22,27

У детей без врожденной пневмонии содержание кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате составило 7,36 [4,78; 16,55] нг/мл с 95% доверительным интервалом от 1,07 до 38,87 нг/мл. В сыворотке крови в 1-ые сутки жизни содержание этого протеина составило 1,68 [0,53;4,88] нг/мл (95% доверительный интервал от 0,27 до 9,76 нг/мл), в 1 месяц жизни – 7,15 [4,56;14,85] нг/мл (95% доверительный интервал от 1,52 до 17,95 нг/мл) (Таблица 42).

Таблица 42 – Содержание кателицидина LL37 у глубоко недоношенных новорожденных без врожденной пневмонии, нг/мл

Биологическая жидкость	Содержание кателицидина LL37, нг/мл				
	2,5%	25%	Ме	75%	97,5%
Фарингеальный аспират	1,07	4,78	7,36	16,55	38,87
Сыворотка крови, 1-ый д.ж.	0,27	0,53	1,68	4,88	9,76
Сыворотка крови, 1 месяц	1,52	4,56	7,15	11,85	17,95

При анализе результатов между исследуемыми группами были получены статистически значимые различия по содержанию белка клеток Клара в фарингеальном аспирате (Таблица 43).

Таблица 43 – Содержание КЦ LL37 в фарингеальном аспирате у новорожденных, включенных в исследование нг/мл.

Показатель	Содержание КЦ LL37 в фарингеальном аспирате		Достоверность различий, р
	1 группа (с врожденной пневмонией)	2 группа (без врожденной пневмонии)	
Содержание КЦ LL37 в фарингеальном аспирате, нг/мл.	10,55 [8,11; 21,24]	6,63 [3,32; 9,52]	0,008

Содержание КЦ LL37 в сыворотке крови на 1-е сутки жизни у обследованных новорожденных статистически значимо не различалось. Вероятно, это связано с тем, что дети обеих групп внутриутробно развивались в достаточно одинаковых условиях, как показал наш анализ соматической патологии матерей, течения беременности и родов, изменений в плацентах. В динамике неонатального периода отмечается статистически значимое увеличение

этого показателя в сыворотке крови в обеих группах, хотя между группами статистически значимой разницы выявлено не было (Таблица 44). Это обстоятельство может быть связано с тем, что при рождении у преждевременно родившихся детей функциональная активность нейтрофилов снижена, а антимикробные пептиды вырабатываются в том числе и нейтрофилами [1]. После рождения на организм ребенка активно воздействует много различных факторов внешней среды (в т.ч. антигенные), что приводит к усилению выработки антимикробных пептидов. Таким образом, полученные нами данные об увеличении содержания в крови изучаемого кателицидина в конце неонатального периода обоснованы и могут свидетельствовать об увеличении функциональной активности нейтрофилов.

Таблица 44 – Содержание кателицидина LL37 в сыворотке крови у обследованных новорожденных, нг/мл.

Показатель	Содержание кателицидина LL37 в сыворотке крови		Достоверность различий, р
	1 группа (с врожденной пневмонией)	2 группа (с РДСН)	
1-й день жизни, нг/мл	1,52 [0,31;4,38]	1,68 [0,53;4,88]	0,61
1 месяц жизни, нг/мл	6,87 [4,05;14,55]	7,17 [4,56;11,85]	0,87
р, в пределах одной группы в динамике неонатального периода (по критерию Вилкоксона)	0,000	0,000	

В фарингеальном аспирате определение содержания КЦ LL37 выявило, что у пациентов 1-ой группы оно было статистически значимо выше, чем у новорожденных из 2-ой группы.

Полученные результаты в нашем исследовании сопоставимы с результатами

исследования S. Schaller-Bals и др. [331]. В этом исследовании было выявлено в трахеальном аспирате повышение концентрации антимикробного пептида КЦ LL37 у преждевременно родившихся младенцев с инфекционной патологией легких. Мы предполагаем, что усиленная продукция этого пептида происходит в результате действия инфекционных агентов, отражает активацию местного иммунитета и имеет защитный характер.

Проведенный персонализированный анализ содержания КЦ LL37 у детей 1 группы (с врожденной пневмонией) в фарингеальном аспирате и сыворотке крови выявил, что его концентрация была сопряжена с исходом заболевания: выздоровление, формирование БЛД и летальный исход. Так, в фарингеальном аспирате в 1-й день жизни наименьшее содержание изучаемого пептида было у умерших детей (7,92 [2,23; 9,04] нг/мл), наибольшее – у детей, сформировавших БЛД (28,25 [22,85; 36,04] нг/мл), средние значения - у детей, выздоровевших от врожденной пневмонии (10,98 [8,3; 19,02] нг/мл) (Рисунок 8).

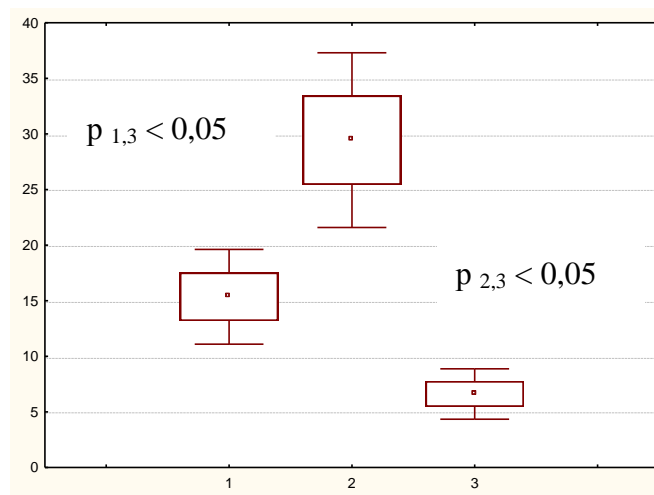


Рисунок 8 – Содержание кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате у глубоко недоношенных новорожденных в зависимости от исхода врожденной пневмонии, нг/мл.

- 1 – дети, выздоровевшие от врожденной пневмонии
- 2 – дети, сформировавшие БЛД в исходе врожденной пневмонии
- 3 – дети, умершие от врожденной пневмонии

Такая же тенденция отмечалась в отношении содержания КЦ LL37 в сыворотке крови в 1-й день жизни: наименьшее содержание изучаемого пептида было у умерших детей (0,9 [0,24; 2,79] нг/мл), наибольшее – у детей, сформировавших БЛД (11,52 [3,71; 13,95] нг/мл), средние значения - у детей, выздоровевших от врожденной пневмонии (1,43 [0,37; 6,26] нг/мл) (Рисунок 9). Учитывая, что содержание кателицидина сопряжено с ответом иммунной системы на воспаление, вероятно, что при летальном исходе выработка этого пептида была недостаточной, а при формировании БЛД – чрезмерной. Наши выводы базируются на физиологических механизмах действия данного пептида, поскольку направленность иммунного ответа (провоспалительный или противовоспалительный) при воздействии КЦ LL37 очень зависит от окружающего клеточного контекста [244, 248].

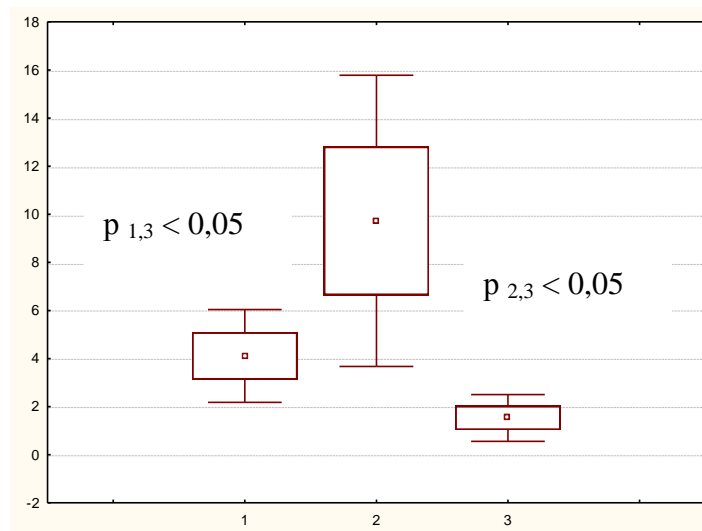


Рисунок 9 – Содержание кателицидина LL 37 в сыворотке крови на 1-ый день жизни у глубоко недоношенных новорожденных в зависимости от исхода врожденной пневмонии, нг/мл.

- 1 – дети, выздоровевшие от врожденной пневмонии
- 2 – дети, сформировавшие БЛД в исходе врожденной пневмонии
- 3 – дети, умершие от врожденной пневмонии



Проведенный ROC-анализ также подтвердил, что концентрация кателицидина LL37 сопряжена с исходом врожденной пневмонии (Рисунок 10).

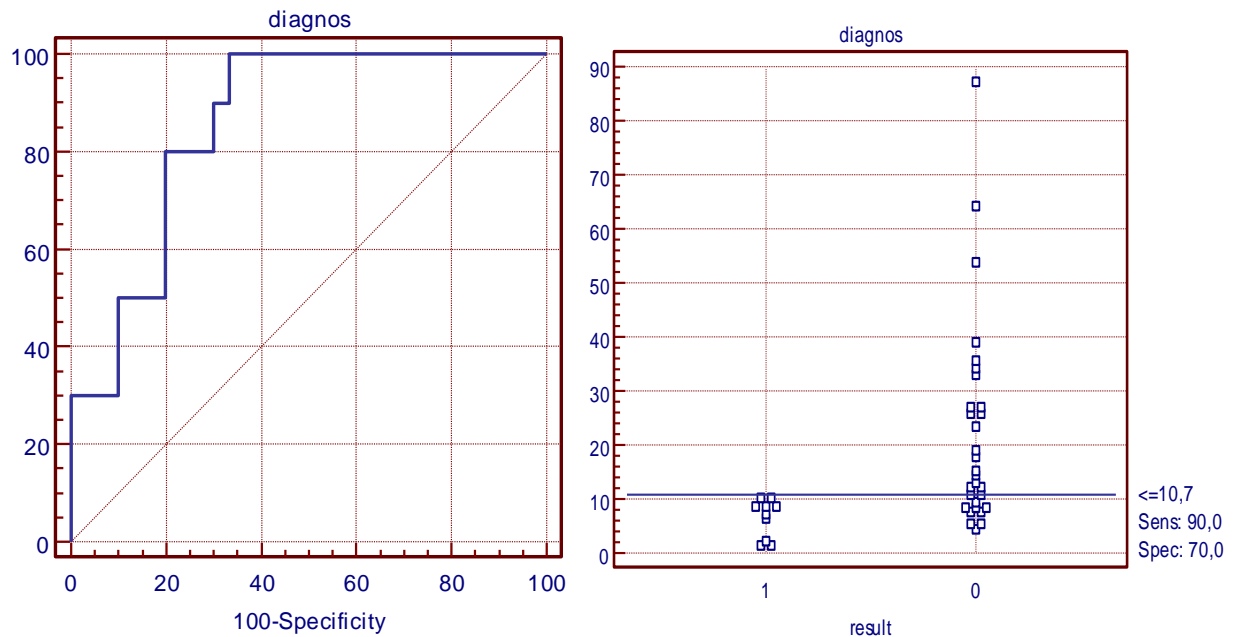


Рисунок 10 – ROC-анализ содержания КЦ LL37 в фарингеальном аспирате в зависимости от исхода врожденной пневмонии

1 – летальный исход

0 – выжившие пациенты.

Расчет отношения шансов показал, что у детей с врожденной пневмонией содержание КЦ LL 37 менее 10,2 нг/мл в фарингеальном аспирате увеличивает риск наступления летального исхода от данной патологии (OR=13,5, 95%-й ДИ 1,9–96,5). Таким образом, при концентрации антимикробного пептида КЦ LL 37 менее 10,2 нг/мл в фарингеальном аспирате вероятность гибели глубоко недоношенных детей от врожденной пневмонии выше в 13,5 раза.

При проведении корреляционного анализа у пациентов 1-ой группы (с врожденной пневмонией) выявлены следующие положительные корреляционные взаимосвязи между:

- содержанием КЦ LL37 в фарингеальном аспирате и длительностью искусственной вентиляции легких ( $r=0,5$ ;  $p=0,001$ ),
- содержанием КЦ LL37 в фарингеальном аспирате и продолжительностью неинвазивной вентиляции (nCPAP) ( $r=0,39$ ;  $p=0,02$ ),

- содержанием КЦ LL37 в фарингеальном аспирате и продолжительностью антибактериальной терапии ( $r=0,4$ ,  $p=0,002$ )
- содержанием КЦ LL37 в фарингеальном аспирате и числом сегментоядерных лейкоцитов в 1-й день жизни в клиническом анализе крови ( $r=0,3$ ,  $p=0,04$ );
- содержанием кателицидина LL37 в 1-й день жизни в сыворотке крови и длительностью искусственной вентиляции легких ( $r=0,3$ ;  $p=0,03$ );

Полученные результаты свидетельствуют о том, что чем более тяжело протекала пневмония, сопровождающаяся продолжительной искусственной вентиляцией легких, антибактериальной и иммунной терапией, тем выше был уровень изучаемого пептида КЦ LL 37 как в фарингеальном аспирате, так и в сыворотке крови на 1-ый д.ж.

Во 2-й группе корреляционный анализ статистически значимых взаимосвязей не выявил.

На основании полученных результатов о связи концентрации кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате с исходом врожденной пневмонии мы разработали способ прогнозирования исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных детей. При его содержании меньше 10,2 нг/мл в фарингеальном аспирате на 1-2-е сутки жизни прогнозируется летальный исход. Специфичность заявленного способа составила 90%, чувствительность – 77%, точность – 80%. Получен патент на изобретение «Способ прогнозирования исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных» № 2543343 от 27.01.2015г [82].

Прогнозирование наступления летального исхода у глубоко недоношенных детей с недостаточной выработкой антимикробного протеина КЦ LL37 позволит лечащему доктору изменить используемую терапию и тем самым улучшить исходы врожденной пневмонии.

## Диагностическое и прогностическое значение содержания секреторной фосфолипазы A2 (человека, тип ПА) в фарингеальном аспирате и сыворотке крови у глубоко недоношенных новорожденных

Фосфолипаза A2 представляет собой фермент класса гидролаз и участвует в метаболизме фосфолипидов, а также развитии воспалительного ответа.

Анализ содержания секреторной фосфолипазы A2 между обследуемыми группами показал, что в фарингеальном аспирате при врожденной пневмонии его содержание было статистически значимо выше, чем у детей без таковой [138]. Однако его содержание в крови в 1-ый день жизни в исследуемых группах статистически значимо не различалось (Таблица 45, Рисунок 11).

Таблица 45 – Содержание секреторной фосфолипазы A2 у глубоко недоношенных новорожденных

Показатель	Группы обследуемых детей		Достоверность различий, p
	1 группа (с врожденной пневмонией)	2 группа (с РДСН)	
Содержание sPLA2 в фарингеальном аспирате, пг/мл	76,66 [64,0;89,9]	55,34 [48,8;77,7]	0,000
Содержание sPLA2 в сыворотке крови на 1 день жизни, пг/мл	23,12 [19,8;33,7]	29,38 [9,1;31,4]	0,94

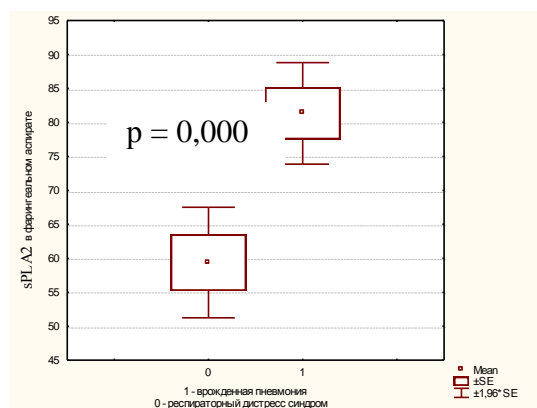


Рисунок 11 – Содержание секреторной фосфолипазы A2 у глубоко недоношенных новорожденных в фарингеальном аспирате

Учитывая функции секреторной фосфолипазы A2, ее высокая концентрация в фарингеальном аспирате может отражать интенсивность воспалительных процессов в легких, что может иметь негативный эффект за счет разрушения липидного компонента мембран клеток легочной ткани и непосредственного разрушения сурфактанта. Это может способствовать формированию бронхолегочной дисплазии. Данный вывод подтверждается результатами нашего катамнестического наблюдения за детьми, включенными в исследование – в группе детей с врожденной пневмонией статистически значимо чаще формировалась бронхолегочная дисплазия.

При корреляционном анализе было выявлено, что концентрация sPLA2 в фарингеальном аспирате у глубоко недоношенных новорожденных имеет прямые и обратные статистически значимые связи. Так, концентрация sPLA2 в фарингеальном аспирате коррелировала с длительностью ИВЛ ( $r=0,37$ ,  $p=0,007$ ), что логично, т.к. уровень sPLA2 тем выше, чем более выражено повреждение легочной ткани, которое сопровождается более тяжелым состоянием ребенка при рождении (данный факт подтверждается наличием корреляционной связи между концентрацией sPLA2 в фарингеальном аспирате и оценкой по шкале Апгар в конце 5-ой минуты жизни ( $r=-0,24$ ,  $p=0,04$ )), более выраженными дыхательными нарушениями и, соответственно, требует более длительной протекции дыхательной системы.

Учитывая функции секреторной фосфолипазы A2, а именно то, что фосфолипаза A2 разрушает мембранные фосфолипиды, при этом высвобождаются полиеновые кислоты (в том числе арахидоновая кислота и лизофосфолипид), превращающиеся затем в медиаторные соединения, включая простагландины, один из которых – простагландин E – играет ведущую роль в расслаблении мышцы артериального протока, сохраняя его открытым [48, 120], мы предположили, что концентрация секреторной фосфолипазы A2 будет сопряжена с функционированием артериального протока. Проведенное нами статистическое исследование показало, что наиболее высокая концентрация секреторной фосфолипазы A2 в фарингеальном аспирате была у детей,

получивших для лечения ГЗ ФАП препарат внутривенной формы ибупрофена – 76,6 [65,8; 129,1]нг/мл против 64,0 [51,7; 83,5]нг/мл у детей с ФАП, но не потребовавших лечение данным препаратом,  $p=0,032$ .

Полученные данные имеют большое практическое значение. Можно предположить, что концентрация секреторной фосфолипазы A2 в фарингеальном аспирате, продемонстрировавшая статистически значимую взаимосвязь с наличием ГЗФАП, может быть использована в качестве потенциального биохимического предиктора в прогнозировании наличия ГЗФАП, критериев его диагностики и схем лекарственной терапии с перспективой использования блокатора секреторной фосфолипазы. Кроме того, применение блокатора секреторной фосфолипазы у глубоко недоношенных детей с врожденной пневмонией может быть возможно и для профилактики формирования БЛД, учитывая, что секреторная фосфолипаза принимает участие в разрушении фосфолипидов сурфактанта.

## **ГЛАВА 6. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ СИСТЕМЫ ДЕТОКСИКАЦИИ И ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВорожденных**

В ходе клинической работы всегда возникает вопрос, почему у одних женщин с отягощенным инфекционным анамнезом рождаются дети с врожденной пневмонией, у других – без врожденной пневмонии. Что обуславливает локализацию воспаления при развитии инфекционного процесса у плода/новорожденного ребенка? Кроме того, почему у некоторых детей исходом врожденной пневмонии является выздоровление, у других – формирование БЛД и/или развитие неблагоприятного исхода (летальный исход, инвалидность со стойким нарушением функций) при одинаковой тяжести врожденной пневмонии?

Гипотезой явилось наличие полиморфных вариантов генов, ассоциированных с развитием врожденной пневмонии и её неблагоприятным исходом, а также, возможно, наличие протективных полиморфизмов. С целью проверки этой гипотезы было проведено исследование полиморфизма генов системы детоксикации глутатион-S-трансфераз и главного комплекса гистосовместимости HLA II класса у 103 детей, включенных в исследование. В 1-ой группе (с врожденной пневмонией) исследование проведено у 61 ребенка, во 2-ой группе (без врожденной пневмонии) – 42 детей.

Генные и генотипические частоты по изученным локусам представлены в Таблицах 46, 47, 48, 49.

Таблица 46 – Частоты аллелей по генам семейства глутатион-S-трансфераз у глубоко недоношенных новорожденных с врожденной пневмонией и без врожденной пневмонии

Аллель	Группы исследований						p	OR CI – 95% (ORmin–Omax)
	1			2				
	n	N	%	n	N	%		
<i>GSTM1</i> -	25	62	40,3	11	43	25,6	0,118	1,9 (0,84–4,35)
<i>GSTM1</i> +	37	62	59,7	32	43	74,4	0,118	0,52 (0,23–1,17)
<i>GSTT1</i> -	12	62	19,4	10	43	23,3	0,621	0,79 (0,30–2,06)
<i>GSTT1</i> +	50	62	80,6	33	43	76,7	0,621	1,27 (0,49–3,3)

Встречаемость низкофункциональных аллелей *GSTT1* и *GSTM1* у глубоко недоношенных детей независимо от наличия/отсутствия врожденной пневмонии была одинаковой.

Частоты выявления генотипа, гомозиготного по негативным аллелям в генах *GSTM1* и *GSTT1*, у детей в обеих группах также были аналогичными (Таблица 47).

Таблица 47 – Частоты генотипов по генам *GSTM1* и *GSTT1* у глубоко недоношенных новорожденных с врожденной пневмонией и без врожденной пневмонии

Генотип	Группы исследований						p	OR CI – 95% (ORmin – ORmax)
	1			2				
	n	N	%	n	N	%		
<i>GSTM1-GSTT1-</i>	5	61	8,2	2	42	4,8	0,497	1,6 (0,43–5,86)
<i>GSTM1+GSTT1 -</i>	7	61	11,5	7	42	16,7	0,454	0,7 (0,21–1,98)
<i>GSTM1 -GSTT1+</i>	19	61	31,1	9	42	21,4	0,274	1,6 (0,68–3,85)
<i>GSTM1+GSTT1+</i>	30	61	49,2	24	42	57,1	0,431	0,7 (0,34–1,58)

У обследованных пациентов, в связи с их недоношенностью, незрелостью, особенностями их внутриутробного развития, в результате воспалительных и оксидативных процессов, имелось большое количество реактивных метаболитов – субстратов для ферментов системы детоксикации. Мы не исключаем, что в данной системе детоксикации у глубоко недоношенных детей с врожденной пневмонией может быть генетически детерминированный дефект других ферментов, однако в изученных нами локусах глутатион-S-трансфераз статистически значимой разницы в генных и генотипических частотах выявить не удалось.

При проведении анализа частоты аллелей и генотипов в локусах *DRB1*, *DQA1* и *DQB1* главного комплекса гистосовместимости HLA II класса выявил между обследованными контингентами статистически значимые различия [89].

Было показано, что у детей с врожденной пневмонией статистически значимо чаще, чем у детей без таковой, в генотипе присутствуют аллели *DRB1*\*04 (15,8% в 1-ой группе и 6,0% во 2-ой группе,  $p=0,04$ , OR=2,77, 95%-й ДИ (1,09–7,03) и *DRB1*\*15 (18,3% в 1-ой группе и 8,3% во 2-ой группе,  $p=0,04$ , OR=2,36, 95%-й ДИ (1,02–5,44)) (Таблица 48).

Таблица 48 – Частоты аллелей по генам главного комплекса гистосовместимости HLA II класса у глубоко недоношенных новорожденных с врожденной пневмонией и без врожденной пневмонии

Локус	Аллель	Группы исследований						p	OR CI – 95% (ORmin – ORmax)
		1			2				
		n	N	%	n	N	%		
<i>DRB1</i>	04	19	120	15,8	5	84	6,0	0,04	2,77 (1,09–7,03)
	13	15	120	12,5	23	84	27,4	0,007	0,38 (0,19–0,77)
	15	22	120	18,3	7	84	8,3	0,04	2,36 (1,02–5,44)
<i>DQA1</i>	0103	18	118	15,3	23	80	28,8	0,021	0,45 (0,23–0,89)
<i>DQB1</i>	0501	10	122	8,2	16	84	19,0	0,02	0,39 (0,17–0,87)



У детей без врожденной пневмонии статистически значимо чаще, чем у детей с пневмонией, в генотипе определялся аллель *DRB1*\*13 (12,5% случаев в 1-ой группе и в 27,4% случаев во 2-ой группе,  $p=0,007$ , OR= 0,38, 95%-й ДИ (0,19-0,77)).

Анализ аллелей локусов *DQA1* и *DQB1* показал, что в группе детей без врожденной пневмонии аллели *DQA1*\*0103 (28,8 и 15,3% соответственно,  $p=0,021$ , OR=0,45, 95%-й ДИ (0,23–0,89)) и *DQB1*\*0501 (19,0 и 8,2% соответственно,  $p=0,02$ , OR=0,39, 95%-й ДИ (0,17–0,87)) статистически значимо чаще встречались, чем у детей с врожденной пневмонией. Это допускает рассматривать данные особенности генотипа новорожденного в качестве протективного фактора относительно риска развития врожденной пневмонии.

Анализ частоты генотипов по генам главного комплекса гистосовместимости HLA II класса и семейства глутатион-S-трансфераз представлен в Таблице 49.

Таблица 49 – Частоты генотипов по генам главного комплекса гистосовместимости HLA II класса и семейства глутатион-S-трансфераз у обследованных пациентов

Генотип	Группы исследований						p	OR CI – 95% (ORmin – ORmax)
	1			2				
	n	N	%	n	N	%		
<i>DRB1</i> * 13/13	1	60	1,7	6	42	14,3	0,013	0,14 (0,03–0,66)
<i>DQA1</i> *0101/0103	1	59	1,7	5	40	12,5	0,027	0,16 (0,03–0,82)
<i>DQB1</i> *0302/0602	7	61	11,5	0	42	0	0,023	11,69 (1,40–97,42)
<i>DQB1</i> *0501/0602	3	61	4,9	8	42	19,0	0,022	0,24 (0,07–0,82)
<i>GSTM1</i> + <i>GSTT1</i> + <i>DRB1</i> 13 <i>DQA1</i> 0501 <i>DQB1</i> 0301	0	58	0	3	39	7,7	0,032	0,09 (0,01-0,81)

Анализ генотипических частот показал, что генотип *DQB1*\*0302/0602 был выявлен только у детей с врожденной пневмонией (в 11,5% случаев,  $p=0,023$ ,  $OR=11,69$ , 95%-й ДИ (1,40–97,42)). Вероятно, это может говорить об ассоциации между данным генотипом и повышенным риском развития данной патологии.

У детей второй группы статистически значимо чаще, по сравнению с новорожденными первой группы, были выявлены генотипы *DRB1*\*13/13; *DQA1*\*0101/0103 и *DQB1*\*0501/0602, а также сочетанное присутствие в генотипе аллелей *GSTM1* + *GSTT1* + *DRB1*\*13 *DQA1*\*0501 *DQB1*\*0301, что позволяет рассматривать эти данные как наследственный протективный фактор в отношении риска развития врожденной пневмонии у новорожденного.

Среди пациентов, которым было проведено молекулярно-генетическое обследование, у 50 детей исходом респираторной патологии явилось формирование бронхолегочной дисплазии. При этом 15 детей имели классическую форму БЛД, 35 пациентов – новую.

Ранее на базе лаборатории клинической биохимии и генетики ФГБУ «ИвНИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава России (руководитель группы генетики – ведущий научный сотрудник, д.м.н., врач-генетик И.Н. Фетисова) уже проводились работы по поиску генов – кандидатов формирования БЛД. Были выявлены полиморфизмы генов системы HLA II класса, ассоциированные с повышенным риском формирования БЛД, а также сочетание аллелей, которые имели протекторное действие относительно формирования данной патологии [88].

Анализ полиморфизма генов семейства глутатион-S-трансфераз у пациентов с бронхолегочной дисплазией также выявил аллельные варианты, ассоциированные с повышенным риском развития данной патологии у глубоко недоношенных детей (Таблица 50) [91].

Так, у детей со сформировавшейся бронхолегочной дисплазией статистически значимо чаще, чем у детей без данной патологии, встречались «нулевые» варианты генов *GSTM1* и *GSTT1*, а сочетанное присутствие делеционных вариантов генов *GSTM1* и *GSTT1* было отмечено только у детей с

БЛД. Напротив, наличие аллелей «дикого типа» генов семейства глутатион-S-трансфераз *GSTM1* + и *GSTT1* + и их сочетанное присутствие в генотипе статистически значимо чаще было диагностировано у детей без БЛД, что может предположительно указывать на их протективное значение в плане формирования хронических заболеваний бронхолегочной системы.

Таблица 50 – Частоты аллелей и генотипов по генам семейства глутатион-S-трансфераз у детей с бронхолегочной дисплазией и без бронхолегочной дисплазии

Аллель, генотип	Обследованные пациенты						p	OR CI – 95%  (ORmin – ORmax)
	с БЛД			без БЛД				
	n	N	%	n	N	%		
<i>GSTM1</i> -	21	50	42,0	10	47	21,3	0,032	2,6 (1,11–6,13)
<i>GSTM1</i> +	29	50	58,0	37	47	78,7	0,023	0,37 (0,15–0,91)
<i>GSTT1</i> -	17	50	34,0	6	47	12,8	0,017	3,34 (1,28–8,72)
<i>GSTT1</i> +	33	50	66,0	41	47	87,1	0,013	0,28 (0,1–0,82)
<i>GSTM1</i> - / <i>GSTT1</i> -	7	50	14,0	0	47	0	0,013	16,38 (2,09-128,24)
<i>GSTM1</i> + / <i>GSTT1</i> +	20	50	40,0	30	47	63,8	0,025	0,39 (0,17–0,86)

Среди детей, которым проводилось молекулярно-генетическое обследование 10 (9,7%) детей умерло (3 – в раннем неонатальном периоде, 1 – в позднем неонатальном периоде, 5 – в постнеонатальном периоде, в возрасте старше года умер 1 ребенок), у 12 (11,65%) - сформировалась инвалидность со стойким нарушением здоровья. В процессе проведения исследования возник вопрос: почему при прочих равных условиях (в том числе проведение медикаментозной терапии в соответствии со стандартами лечения с учетом индивидуальных особенностей) у некоторых детей возникает неблагоприятный исход. Мы предположили, что развитие неблагоприятного исхода может быть ассоциировано с полиморфизмом генов системы детоксикации и HLA II класса. Обследуемые дети были разделены на 2 группы: 81 ребенок с благоприятным

исходом и 22 ребенка с неблагоприятным исходом (летальный исход, инвалидность со стойким нарушением здоровья).

У детей с благоприятным и неблагоприятным исходом мы провели анализ соматической заболеваемости их матерей, течения беременности и родов, патоморфологического исследования плацент, который показал, что статистически значимых различий не было выявлено, что свидетельствует о том, что дети развивались в достаточно одинаковых условиях. Однако было выявлено, что дети с неблагоприятным исходом родились менее зрелыми, на сроке гестации 29 [27; 30] недель, тогда как дети с благоприятным исходом – 27 [26; 29] недель ( $p=0,0004$ ). При этом основные показатели физического развития были также значимо меньше у детей с неблагоприятным исходом (Таблица 51).

Таблица 51 – Физическое развитие детей с различными исходами заболеваний.

Показатели	Группы обследованных детей		Достоверность различий, $p$
	Дети с благоприятным исходом $n=81$	Дети с неблагоприятным исходом) $n=22$	
Масса (г)	997 [941;1337]	960 [800;990]	0,0089
Длина (см)	36 [34; 39]	33 [31; 36]	0,008
Окружность головы (см)	25 [22; 27]	26 [25; 28]	-

Несмотря на наличие статистически значимых различий по основным показателям физического развития, в подавляющем большинстве физическое развитие соответствовало гестационному возрасту и не удалось установить различий по частоте задержки внутриутробного развития в исследуемых группах.

Проведенное генетическое исследование выявило статистически значимые различия в обследуемых группах [41]. Анализ частот аллелей и генотипов в генах *DRB1*, *DQA1* и *DQB1* главного комплекса гистосовместимости показал, что у

детей с неблагоприятным чаще, чем у детей с благоприятным исходом в генотипе присутствует аллель *DQA1\*0301* (28,6 и 14,9% соответственно,  $p=0,041$ ,  $OR=2,29$ , 95%-й ДИ (1,035-5,080)).

Анализ полиморфизма в генах семейства глутатион-S-трансфераз (*GSTM1* и *GSTT1*) у глубоко недоношенных новорожденных с благоприятным и неблагоприятным исходом не выявил статистически значимых различий в генных и генотипических частотах.

При планировании данного исследования мы предполагали, что наличие низкофункциональных аллелей *GSTM1* и *GSTT1* будет способствовать развитию неблагоприятного исхода. Однако наши результаты показали, что данное сочетание выявлялось только у выживших 7 (8,6%) детей со сформировавшейся бронхолегочной дисплазией. При этом исход БЛД к 3-летнему возрасту – клиническое выздоровление. Отсутствие статистически значимой разницы возможно связано с малым объемом выборки и требует проведение дальнейшего исследования.

Анализ частот встречаемости совместного присутствия в генотипе аллелей генов системы главного комплекса гистосовместимости и семейства глутатион-S-трансфераз у глубоко недоношенных детей показал, что генотип *GSTM1*+/+ *GSTT1*+/+ *DRB1\*13* *DQA1\*0301* *DQB1\*0602* определялся только у пациентов с неблагоприятным исходом (0 и 10,0% соответственно,  $p=0,041$ ,  $OR=20,95$ , 95%-й ДИ (2,49-175,6)).

В ходе анализа результатов нашего молекулярно-генетического исследования, среди обследованных пациентов в отдельную группу были выделены дети с летальным исходом (10 детей). У этих детей были выявлены следующие особенности генотипа. Наличие аллеля *DQA1\*0401* статистически значимо чаще было отмечено у детей с летальным исходом. Наличие генотипов *GSTM1* - *GSTT1* +/+ *DRB1\*11* *DQA1\*0501* *DQB1\*0301* и *GSTM1* - *GSTT1*+/+ *DRB1\*15* *DQA1\*0102* *DQB1\*0602* в 17 раз увеличивает риск наступления летального исхода (Таблица 52).

Таблица 52 – Частота встречаемости совместного присутствия в генотипе аллелей генов системы HLA II класса и семейства глутатион-S-трансфераз у глубоко недоношенных новорожденных с летальным исходом

аллели	Группы исследований <sup>1</sup>						p	OR CI – 95% (ORmin – ORmax)
	I			II				
	n	N	%	n	N	%		
<i>DQA1</i> *0401	2	154	1,29	2	20	10	0,014	8,24 (1,5-44,7)
<i>GSTM1</i> - <i>GSTT1</i> + <i>DRB1</i> *11 <i>DQA1</i> *0501 <i>DQB1</i> *0301	1	77	1,3	2	9	22,2	0,028	17 (3,06-94,5)
<i>GSEMI</i> - <i>GSTT1</i> + <i>DRB1</i> *15 <i>DQA1</i> * 0102 <i>DQB1</i> *0602	1	77	1,3	2	9	22,2	0,028	17 (3,06-94,5)

<sup>1</sup> - I группа – выжившие (93 ребенка), II группа – летальный исход (10 детей)

Таким образом, нами установлено, что развитие врожденной пневмонии и её исходов (выздоровление или бронхолегочной дисплазии), развитие неблагоприятных исходов у детей с респираторной патологией (летальный исход, инвалидность со стойким нарушением функции) ассоциировано с определенными полиморфными вариантами генов системы детоксикации (семейства глутатион-S-трансфераз) и HLA II класса.

Для подтверждения предикативности выявленных полиморфизмов необходимо продолжить исследования для определения таргетных белков и возможностей воздействия на продукты измененных генов для разработки схем индивидуального лечения.

## **ГЛАВА 7. МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИИ И ЕЕ ИСХОДОВ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ И ОРГАНИЗАЦИЯ МЕДИЦИНСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ДЕТЬМИ С ЭТОЙ ПАТОЛОГИЕЙ**

### **Механизмы формирования врожденной пневмонии и ее исходов у глубоко недоношенных новорожденных**

Результаты проведенного нами исследования позволяют расширить представление о механизмах патогенеза формирования врожденной пневмонии и ее исходов у глубоко недоношенных новорожденных (схема 1).

Предложена концепция о роли генетических и биохимических факторов в формировании врожденной пневмонии и ее исходов у глубоко недоношенных новорожденных.

В условиях наличия инфекционно-воспалительного процесса у матери не во всех случаях реализуется инфекция у плода/ребенка. При этом локализация воспаления может быть различной, что зависит, в том числе, от генетических факторов. Исходы врожденной пневмонии также могут быть ассоциированы с полиморфизмом генов [18, 28].

В наших исследованиях было установлено, что у женщин как 1-ой, так и 2-ой групп с одинаковой частотой встречались хронические инфекционные заболевания и инфекционно-воспалительные заболевания во время беременности. Однако, врожденная пневмония развилась не у всех детей. Другая врожденная инфекционно-воспалительная патология, отличная от пневмонии (инфекция мочевыводящих путей, менингит, энтероколит), встречалась как в группе детей с врожденной пневмонией, так и без нее. Нами выявлены полиморфные варианты генов системы детоксикации и главного комплекса гистосовместимости HLA II класса как ассоциированные с развитием пневмонии, так и являющиеся протективными в отношении развития врожденной пневмонии, а также с различными исходами врожденной пневмонии (выздоровление, формирование БЛД).

Развитие инфекционно-воспалительного процесса в организме ребенка сопровождается изменением содержания биохимических маркеров воспаления, которые играют важную роль в поддержании гомеостаза. К таким веществам относятся пневмопротеины, кателицидин LL37, секреторная фосфолипаза A2.

Как показали наши исследования, развитие пневмонии сопровождается усиленной выработкой пневмопротеинов, важнейшая роль которых антиинфекционная защита легких. У детей с врожденной пневмонией содержание изученных нами пневмопротеинов как в бронхоальвеолярной лаважной жидкости, так и в сыворотке крови было статистически значимо больше, чем у детей без врожденной пневмонии.

В противоинфекционной защите принимают участие антимикробные пептиды, представителем которых является кателицидин LL37. Повышение его содержания в фарингеальном аспирате диагностируется у детей с врожденной пневмонией. При этом в крови его содержание статистически не различалось у детей обеих групп.

Определение концентрации пневмопротеинов (сурфактантного протеина D и белка клеток Клара) в бронхоальвеолярной лаважной жидкости, а также антимикробного пептида кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате имеет диагностическое значение. В связи с тем, что клинические проявления врожденной пневмонии не патогномоничны, рентгенологическая картина также неспецифична при некоторых видах возбудителей, в 1/3 случаев при рентгенологическом исследовании может не выявляться характерных изменений, диагностика этого заболевания у глубоко недоношенных детей затруднена [33]. Поэтому определение уровня вышеперечисленных маркеров поможет в диагностике инфекционных и неинфекционных заболеваний легких у новорожденных, и, следовательно, поможет врачу назначить адекватное лечение.

Концентрация сурфактантного протеина D, белка клеток Клара и кателицидина LL 37 имеет и прогностическое значение, т.к. содержание этих маркеров у детей с врожденной пневмонией было неодинаковым. У некоторых детей определялось очень низкое содержание этих маркеров, что



ассоциировалось, в последующем, с формированием БЛД и развитием неблагоприятного исхода (летальный исход, формирование инвалидности со стойким нарушением функций).

Большинство глубоко недоношенных детей с дыхательными нарушениями после выписки стационара имеют догоняющий рост, при этом патологические изменения со стороны многих органов и систем могут сохраняться длительное время, что требует длительного наблюдения и своевременной коррекции. Проведенная нами комплексная оценка состояния здоровья детей в возрасте 3-х лет показала, что подавляющее число детей имели I или II группу здоровья, т.е. не имели хронических заболеваний, нормальное физическое развитие и I группу нервно-психического развития.

Проведенное нами исследование биохимических маркеров воспаления в раннем неонатальном периоде определяет развитие не только ранних исходов, но и оказывает влияние на формирование отдаленных последствий, в том числе к 3-летнему возрасту. Так, низкий уровень изучаемых пневмопротеинов в лаважной жидкости играет существенную роль в формировании бронхолегочной дисплазии, исход которой определяется именно к 3-летнему возрасту, а по литературным данным структурные изменения могут сохраняться и в течение всей жизни [43]. Такое же значение имеет и низкое содержание кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате. Несмотря на то, что содержание секреторной фосфолипазы A2 в фарингеальном аспирате не отличалось у детей с БЛД и без БЛД, влияние на формирование этого хронического заболевания легких, по нашему мнению, имеется. Это связано с функцией секреторной фосфолипазы A2, участвующей в обороте мембранных фосфолипидов, а также фосфолипидов сурфактанта и переваривании липидов. Однако, при воспалении уровень этого фермента значительно повышается, как показано в нашем исследовании. Данная ситуация может приводить к чрезмерному разрушению фосфолипидов сурфактанта, способствуя формированию БЛД в условиях незрелости легких у глубоко недоношенных детей.

У глубоко недоношенных детей в исходе перинатальной патологии могут формироваться неблагоприятные исходы в виде тяжелых инвалидизирующих состояний, летального исхода.

В группе детей с врожденной пневмонией статистически значимо чаще формировалась инвалидность, на первом месте в структуре которой были заболевания нервной системы. Летальный исход также статистически значимо чаще регистрировался в группе детей с врожденной пневмонией. У детей с неблагоприятным исходом, кроме особенностей содержания биохимических маркеров, при генетическом обследовании выявлены полиморфные варианты генов системы детоксикации и главного комплекса гистосовместимости II класса. При анализе клинико-анамнестических данных также выявлены факторы риска формирования неблагоприятного исхода - ГЗ ФАП, дыхательная недостаточность III степени, длительный безводный период, экстремально низкая масса тела при рождении, врожденная пневмония, тяжелая асфиксия при рождении.

Схема 1. НОВЫЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИИ И ЕЕ ИСХОДОВ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ



## **Организация медицинского наблюдения детей, родившихся глубоко недоношенными с дыхательными нарушениями.**

В настоящее время обследование, наблюдение и лечение детей, родившихся глубоко недоношенными, происходит в соответствии с приказами, методическими и клиническими рекомендациями в зависимости от имеющейся патологии. Медицинский контроль предполагает прогнозирование нарушений состояния здоровья детей на основании анализа факторов риска: клинических, медико-биологического и социального анамнеза и проведение таргетных превентивных мероприятий.

Организация медицинской помощи глубоко недоношенным детям происходит на следующих этапах: превентивном (подготовка родителей к рождению), антенатальном, постнатальном, включая катамнестическое наблюдение.

На превентивном этапе учитывается репродуктивное и соматическое здоровье родителей, наличие в семье преждевременно родившихся детей. На антенатальном – особенности наступления и течения беременности, состояние здоровья беременной, инфекционная заболеваемость во время беременности, проведение курса антенатальной профилактики РДС кортикостероидами. На постнатальном этапе учитываются особенности рождения ребенка и постнатальной адаптации. На каждом этапе прогноз уточняется и корректируется по мере появления новых или устранения имевшихся факторов риска. На основании этого проводятся мероприятия по предупреждению отклонений в состоянии здоровья ребенка.

В настоящее время очевидно, что врожденная пневмония играет существенную роль в возникновении различных нарушений здоровья у детей не только в неонатальном и постнеонатальном периоде, но и в отдаленные периоды жизни. Проведенное исследование позволяет внести ряд дополнений в организацию наблюдения за детьми, родившихся глубоко недоношенными. С целью прогнозирования развития и диагностики врожденной пневмонии и её

исходов (выздоровление или бронхолегочной дисплазии), а также развития неблагоприятных исходов (летальный исход, инвалидность со стойким нарушением здоровья) у глубоко недоношенных детей мы рекомендуем определение полиморфных вариантов генов семейства глутатион-S-трансфераз и главного комплекса гистосовместимости HLA II класса, а также определение в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и сыворотке крови сурфактантного протеина D и белка клеток Клара, в фарингеальном аспирате и сыворотке крови кателицидина LL37 и секреторной фосфолипазы A2.

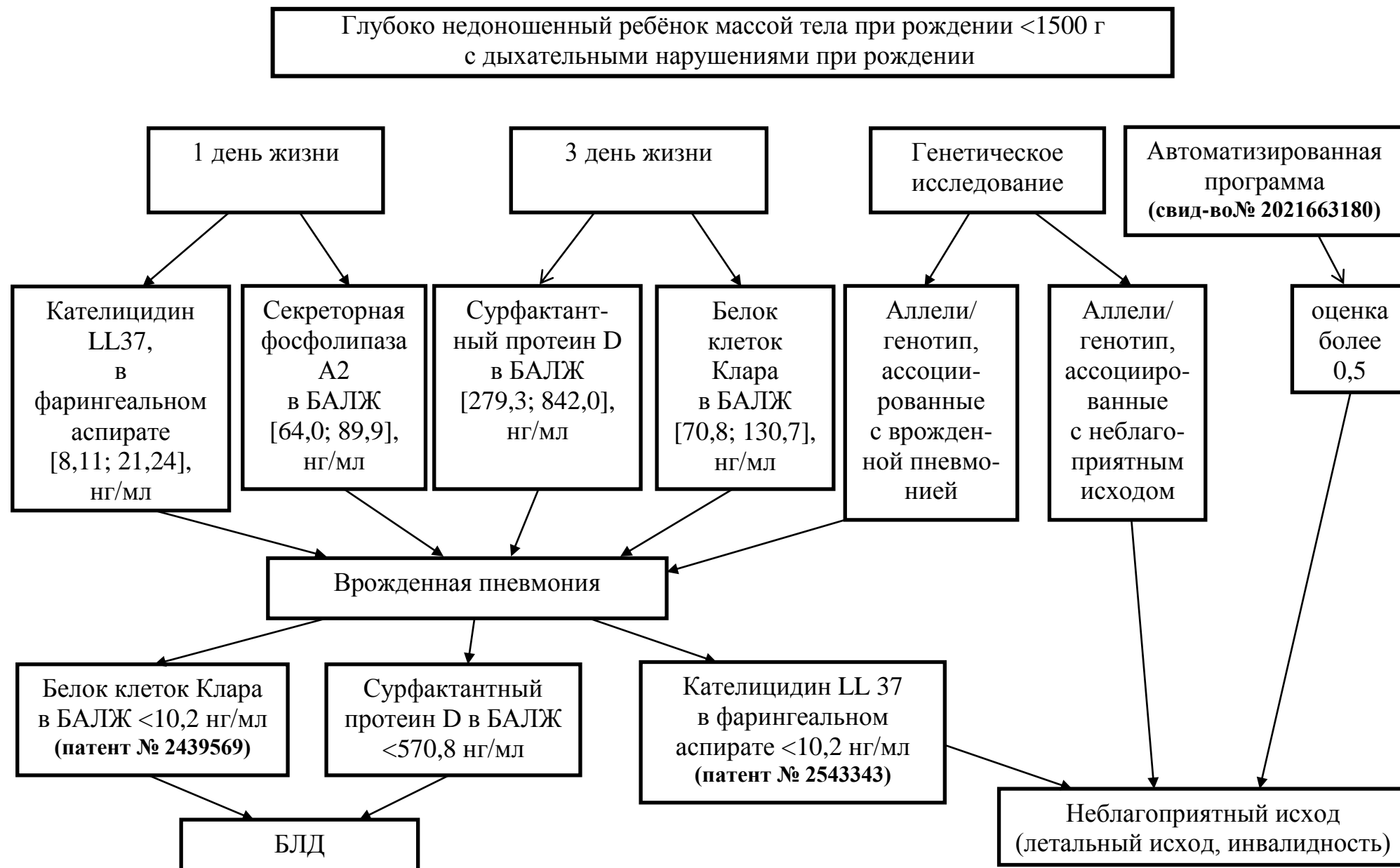
Выявлено, что определенные полиморфные варианты генов *GSTM1* и *GSTT1* системы детоксикации и локусов *DRB1*, *DQA1* и *DQB1* главного комплекса гистосовместимости ассоциированы с развитием врожденной пневмонии, формированием БЛД и неблагоприятным исходом (летальный исход, инвалидность со стойким нарушением функции), другие, напротив, являются протективными.

Формирование БЛД у детей с врожденной пневмонией прогнозируется при содержании сурфактантного протеина D в лаважной жидкости  $\leq 570,8$  нг/мл и белка клеток Клара в лаважной жидкости менее 53 нг/мл на 3 д.ж.

Летальный исход у глубоко недоношенных детей с врожденной пневмонией прогнозируется при содержании кателицидина LL37 в разовой порции фарингеального аспирата на 1-2-е сутки жизни менее 10,2 нг/мл.

В итоге работы дополнена и усовершенствована система наблюдения за детьми, родившимися глубоко недоношенными. Выявление новых генетических и биохимических факторов риска формирования врожденной пневмонии и ее исходов позволило разработать новые прогностические и диагностические критерии формирования и исходов этой патологии. Выявлены наиболее значимые анамнестические и клинические факторы риска формирования неблагоприятного исхода у глубоко недоношенных детей, что позволило разработать автоматизированную программу прогнозирования неблагоприятного исхода перинатальной патологии у глубоко недоношенных детей с использованием технологий искусственного интеллекта.

Схема 2. АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИИ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИСХОДОВ  
ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ



## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

### **(ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ)**

В структуре младенческой смертности в России приблизительно 30% смертей приходится на недоношенных детей. При этом врожденная пневмония является самой частой нозологической формой у этих пациентов, а также причиной их летального исхода [20, 61].

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России является учреждением 3 б группы. В стационар госпитализируют беременных высокой степени риска на материнскую и перинатальную заболеваемость и смертность. Среди всех родов за последние годы такая категория родильниц составляет 75,0-76,0%. Частота преждевременных родов составляет 18-20%. Среди всех преждевременных родов в Ивановском регионе около 80% происходит в ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н.Городкова» МЗ РФ. Медицинскую помощь оказывают беременным женщинам высокой степени риска не только из Ивановской области, но и других регионов. По нашим данным в ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова» МЗ РФ частота врожденной пневмонии у глубоко недоношенных детей за последние 5 лет составила 57,3%. Диагноз поставлен в соответствии с клиническими рекомендациями [21], во всех случаях подтверждена рентгенологически. Выживаемость детей с ОНМТ и ЭНМТ возрастает, а младенческая смертность снижается (Рисунки 12 и 13).

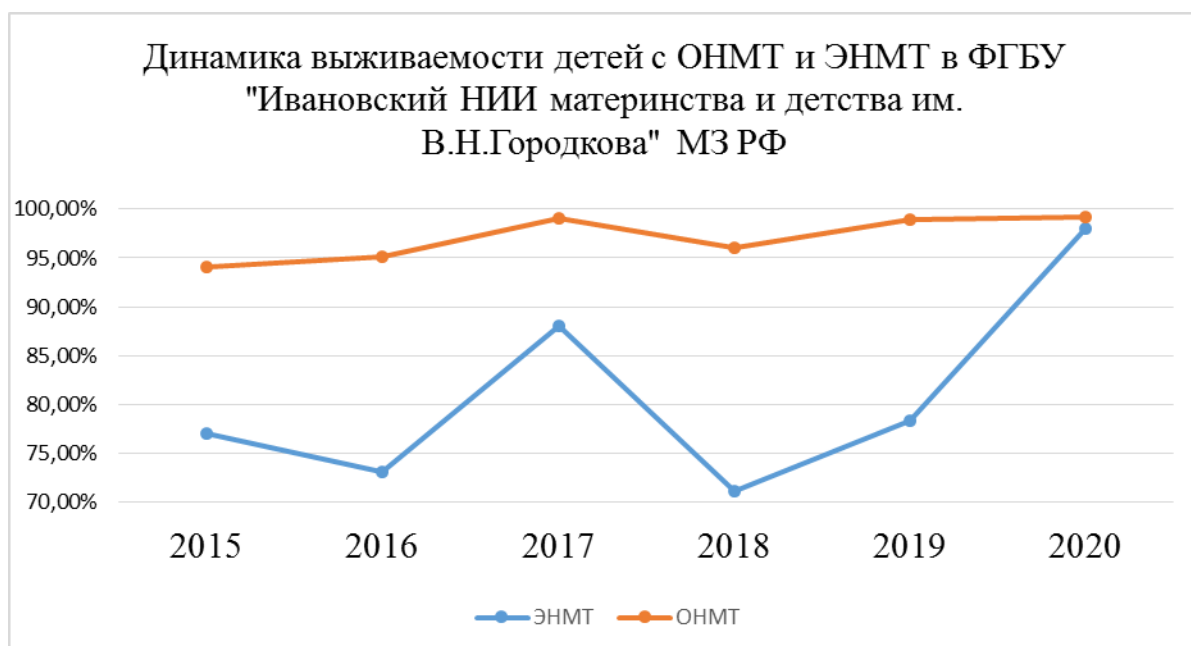


Рисунок 12 – Динамика выживаемости детей с ЭНМТ и ОНМТ в ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова» МЗ РФ

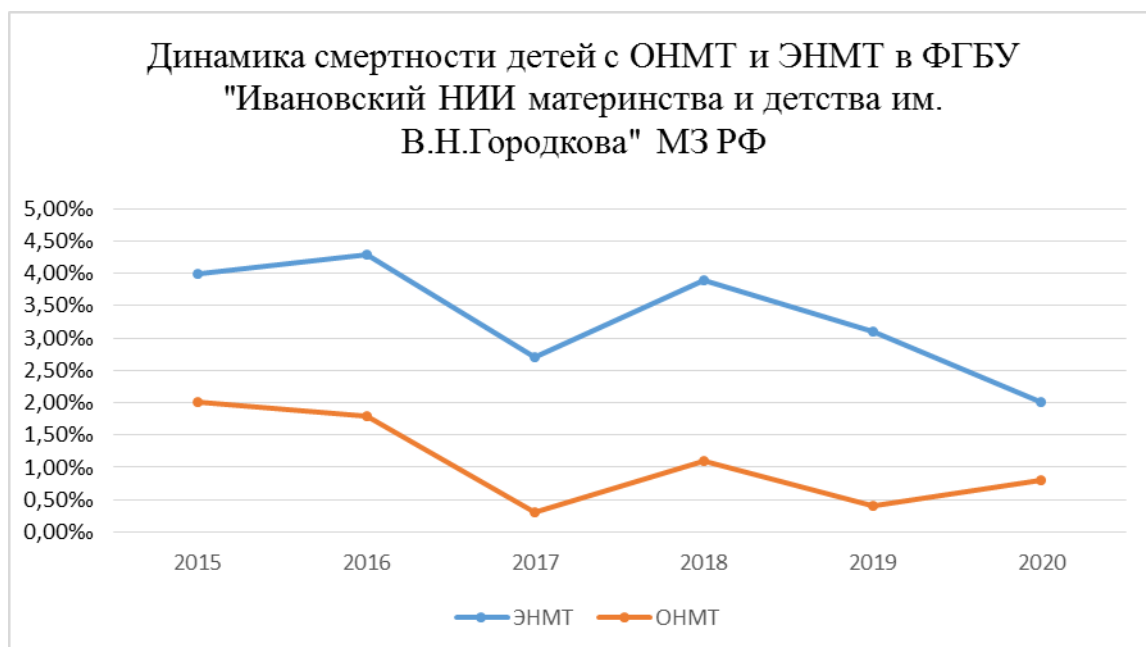


Рисунок 13 – Динамика смертности детей с ОНМТ и ЭНМТ в ФГБУ "Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова" МЗ РФ



Структура смертности в динамике также претерпела изменения. Так, в 2015 году как у детей с ЭНМТ, так и с ОНМТ в 28,6% случаев причиной летального исхода была врожденная пневмония. В 2020 году среди детей, родившихся с ОНМТ, ни в одном случае врожденная пневмония не была причиной смерти. У детей, родившихся с ЭНМТ, врожденная пневмония как причина смерти зарегистрирована в 40% случаев, однако в абсолютных цифрах таких детей стало в 2 раза меньше.

Учитывая, что в возрастной структуре смертности детей в РФ за последние годы уменьшилась доля младенческой смертности (с 61,9% до 50,7%), соответственно, увеличилась доля умерших в возрасте старше одного года, что определяет необходимость тщательного катамнестического наблюдения за недоношенными детьми, которые вносят большой вклад в общую структуру заболеваемости и смертности детского населения [8, 60, 119].

Залогом успеха лечения и выхаживания глубоко недоношенных детей с врожденной пневмонией, а также профилактики близких и отдаленных неблагоприятных исходов является своевременная диагностика как самого заболевания, так и раннее прогнозирование стойких нарушений здоровья у детей, а также летального исхода.

Для определения новых патогенетических механизмов врожденной пневмонии, способов прогнозирования ее исхода, в нашей работе было проведено обследование 274 детей, гестационный возраст которых был меньше 32 недель, масса тела менее 1500 г., имевших дыхательные нарушения на момент рождения. В 1-ую группу было включено 157 новорожденных с врожденной пневмонией (P23); во 2-ую группу – 117 детей без признаков врожденной пневмонии, но имевших на момент рождения дыхательные нарушения, обусловленные наличием респираторного дистресс синдрома (P22.0).

Работа выполнена в 4 этапа, включавших в себя 7 исследований. Первый этап заключался в изучении содержания сурфактантного протеина D и белка клеток Клара в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и сыворотке крови в динамике неонатального периода. На втором этапе исследовалось содержание

кателицидина LL37 и секреторной фосфолипазы в фарингеальном аспирате и сыворотке крови также в динамике неонатального периода. На третьем этапе изучался вклад генетических факторов в развитие и исходы врожденной пневмонии, а именно гены *GSTM1* и *GSTT1* системы детоксикации, а также HLA II класса (локусы *DRB1*, *DQA1* и *DQB1*). Четвертый этап включал катамнестическое наблюдение за глубоко недоношенными детьми, а также комплексную оценку состояния здоровья детей в возрасте 3-х лет. Учитывая, что развитие неблагоприятного исхода (летальный исход, формирование инвалидности со стойким нарушением здоровья) возможно не только в исходе врожденной пневмонии, но и другой перинатальной патологии у глубоко недоношенных детей, был проведен анализ факторов риска развития неблагоприятного исхода у этой категории пациентов (клинико-анамнестических, биохимических и генетических) с разработкой автоматизированной программы, позволяющей прогнозировать развитие неблагоприятного исхода.

Проведенный нами анализ соматической заболеваемости матерей обследованных детей, акушерско-гинекологического анамнеза, течения беременности и родов показал, что женщины, родившие детей с врожденной пневмонией, были статистически значимо более старшими (29 [25; 33] лет в 1-ой группе против 27 [23; 31] лет во 2-ой группе ( $p=0,01$ ) и статистически значимо чаще повторнобеременными (84,1% в 1-ой группе против 65,8% во 2-ой,  $p=0,0003$ ). Других статистически значимых различий выявлено не было. При планировании данного исследования мы предположили, что будут выявлены факторы риска развития врожденной пневмонии. Однако отягощенный инфекционный анамнез имелся как в 1-ой, так и во 2-ой группе матерей обследованных детей. Соматические заболевания матерей инфекционной этиологии (в том числе хронические), воспалительные заболевания половых органов (чаще нижнего отдела) как в анамнезе, так и при беременности, острые инфекционные заболевания во время настоящей беременности и родах с одинаково высокой частотой встречались у пациенток обеих групп.

Наличие инфекционного фактора отразилось на функционировании маточно-плодово-плацентарного комплекса. При гистологическом исследовании плацент обеих групп выявлен ряд патоморфологических изменений, ведущее место среди которых занимали воспаление и нарушения маточно-плацентарного кровообращения. Среди воспалительных изменений преобладал лимфоцитарный базальный децидуит – в 71 (45,2%) и 52 (44,4%) случаях соответственно в группах ( $p=0,87$ ); париетальный децидуит определялся в 39 (24,8%) и 36 (30,8%) случаях в 1-ой и 2-ой группах соответственно ( $p=0,27$ ). В плацентах обеих групп также был диагностирован виллузит промежуточных и терминальных ворсин (40 (25,5%) и 36 (30,8%) случаях в группах соответственно,  $p=0,27$ ), что можно расценить как проявление хронического воспаления на гематогенную циркуляцию вирусов и бактериальных компонентов. В единичных плацентах воспалительные изменения сопровождались формированием поствоспалительного фиброза стромы: в 3 (1,9%) случаях у пациенток 1-ой группы и в 2 (1,7%) случаях у пациенток 2-ой группы ( $p=0,90$ ). Васкулит стволовых ворсин диагностирован в 13 (8,3%) и 14 (11,9%) случаях, соответственно ( $p=0,26$ ).

Острый хориоамнионит диагностирован в 17,8% случаев 1-ой группы и в 16,2% – 2-ой ( $p=0,66$ ). Фетальный воспалительный ответ в виде сосудисто-стромального фуникулита, обусловленного внутри утробной инфекцией, определялся в плацентах обеих групп с одинаковой частотой (5,7% и 5,1%,  $p=0,83$ ). Виллузит неуточненной этиологии диагностирован в 22,5% случаев 1-ой группы и 30,7% случаев 2-ой группы ( $p=0,27$ ), при этом поражались дистальные отделы ворсинчатого дерева с развитием облитерирующей фетальной васкулопатией, которая сочеталась с задержкой роста плода.

Наше исследование показало, что наличие инфекционного фактора в анамнезе и при беременности у женщин, родивших глубоко недоношенных детей, а также частая и разнообразная воспалительная патология плацент, не во всех случаях привела к развитию врожденной пневмонии. Поэтому мы предположили, что отягощенный инфекционный анамнез и наличие инфекционно-воспалительных поражений плацент являются подтверждением определяющей

роли инфекционного процесса в патогенезе преждевременных родов и в развитии внутриутробного инфицирования плода, но не развития врожденной пневмонии. Полученные нами данные подтверждаются данными литературы о первостепенной роли инфекционно-воспалительного процесса при преждевременных родах [50]. При этом подчеркивается, что чем меньше гестационный возраст, тем более значим инфекционный фактор в наступлении преждевременных родов [4]. В исследовании Белоусовой В.С. с соавт (2020) показано, что даже при исключении инфекционного фактора и отсутствии очевидного воспалительного процесса во влагалище и в шейке матки в генезе спонтанных преждевременных родов лежит воспалительный процесс [95].

Поэтому мы предположили, что одним из факторов, определяющих развитие врожденной пневмонии является наличие генетической предрасположенности. В литературе имеются сведения о причастности различных генов не только к развитию дыхательных нарушений у новорожденных, но и тяжести течения и исходам [11, 71].

С этой целью мы провели исследование полиморфизма генов *GSTM1* и *GSTT1* системы детоксикации (глутатион-S-трансфераз) и локусов *DRB1*, *DQA1* и *DQB1* главного комплекса гистосовместимости HLA II класса у 103 детей, включенных в исследование. В 1-ой группе (с врожденной пневмонией) исследование проведено у 61 ребенка, во 2-ой группе (с РДС) – 42 детей. Данные системы – система глутатион-S-трансфераз и HLA II класса – были выбраны не случайно: гены системы детоксикации играют ключевую роль в клеточной детоксикации, а гены системы HLA II класса имеют решающее значение для распознавания чужеродных молекул иммунной системой [132].

Наше исследование показало, что у детей с врожденной пневмонией статистически значимо чаще, чем у детей без таковой, в генотипе присутствуют аллели *DRB1*\*04 (15,8% в 1-ой группе и 6,0% во 2-ой,  $p=0,04$ , OR=2,77 (1,09-7,03) и *DRB1*\*15 (18,3% в 1-ой группе и 8,3% во 2-ой,  $p=0,04$ , OR=2,36, 95%-й ДИ (1,02-5,44)). Это означает, что наличие в генотипе аллеля *DRB1*\*04 в 2,77 раза, а аллеля

*DRB1\*15* в 2,36 раза увеличивает риск развития врожденной пневмонии у детей при наличии инфекционного фактора во время беременности у их матерей.

Вместе с тем, нам удалось выяснить, что некоторые аллели являлись протективными. Так, аллель *DRB1\*13* статистически значимо чаще встречался у детей без врожденной пневмонии: отношение шансов развития пневмонии у детей с таким аллелем составляет 0,38, 95%-й ДИ (0,19–0,77),  $p=0,007$ . Среди других локусов протективными также оказались аллели *DQA1\*0103* ( $OR=0,45$ , 95%-й ДИ (0,23–0,89),  $p=0,021$ ,) и *DQB1\*0501* ( $OR=0,39$ , 95%-й ДИ (0,17–0,87),  $p=0,02$ ). Как показано в работе Wang S et al. протективное действие в плане развития инфекции локуса *DR* может быть связано с контролем вирусной пролиферации и персистенции. А по данным Harcourt G et al. locus *DQB1* обеспечивает защитный эффект за счет взаимодействия с хелперными клетками CD4+ [213].

Кроме того, мы провели анализ генотипических частот с целью определения вариантов, ассоциированных с развитием врожденной пневмонии, а также протективных комбинаций:

– генотип *DQB1\*0302/0602* определялся только у детей с врожденной пневмонией (11,5 и 0% соответственно,  $p=0,023$ ), отношение шансов развития пневмонии у детей с таким вариантом составляет 11,69, 95%-й ДИ (1,40–97,42)), что может свидетельствовать об ассоциации между данным генотипом и повышенным риском развития данной патологии.

– у детей второй группы статистически значимо чаще по сравнению с новорожденными первой группы, были выявлены генотипы *DRB1\*13/13* ( $OR=0,14$ , 95%-й ДИ (0,03–0,66)); *DQA1\*0101/0103* ( $OR=0,16$ , 95%-й ДИ (0,03–0,82)) и *DQB1\*0501/0602* ( $OR=0,24$ , 95%-й ДИ (0,07–0,82)). Сочетанное присутствие в генотипе аллелей *GSTM1 + GSTT1 + DRB1\*13 DQA1\*0501 DQB1\*0301* ( $OR=0,09$ , 95%-й ДИ (0,01–0,81)) выявлено только у детей без врожденной пневмонии. Полученные данные позволяют рассматривать эти генотипы как наследственный протективный фактор в отношении риска развития врожденной пневмонии у новорожденного.

В патогенезе дыхательных нарушений у новорожденных детей большое значение имеют различные биохимические факторы. Нами была изучена причастность пневмопротеинов как к формированию врожденной пневмонии, так и к ее исходам. Пневмопротеины представляют собой специфические белки, вырабатываемые преимущественно эпителиальными клетками легких. Представителями пневмопротеинов являются сурфактантный протеин Д и белок клеток Клара. Оба этих белка являются маркерами повреждения и воспаления легких [309]. Исследования Dahl M с соавт (2006) выявили, что у недоношенных новорожденных высокая концентрация СП-D в пуповинной и капиллярной крови недоношенных новорожденных сопряжена с высоким риском инфицирования [352].

Содержание этих протеинов нами было исследовано у 106 пациентов, включенных в исследование. Из них у 65 детей с врожденной пневмонией (1 группа) и у 41 ребенка без врожденной пневмонии (2 группа). Содержание пневмопротеинов определяли на 3-й день жизни и в 1 месяц жизни в периферической венозной крови; у детей, находящихся на традиционной ИВЛ, однократно на 3-й день жизни в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (Рисунок 14).

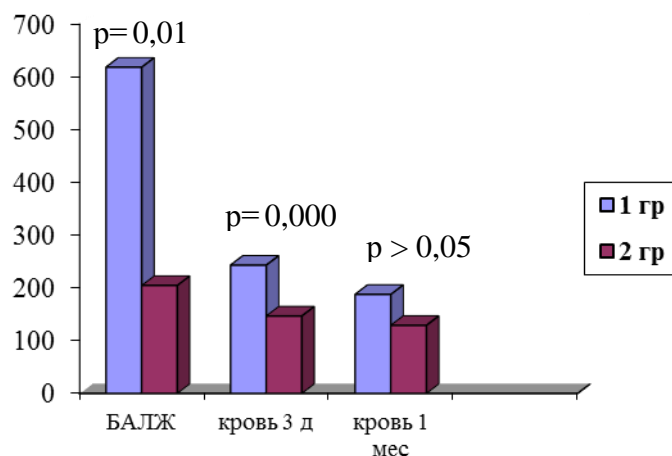


Рисунок 14 – Содержание сурфактантного протеина D у глубоко недоношенных детей.

Концентрация сурфактантного протеина D в лаважной жидкости у обследуемых пациентов с врожденной пневмонией, составила 617,84 [279,26; 842,02] нг/мл. У детей без врожденной пневмонии содержание СП-D в БАЛЖ составило 204,5 [160,2; 248,93] нг/мл, что статистически значимо меньше, чем у детей с врожденной пневмонией ( $p=0,01$ ). Поскольку, одна из основных функций сурфактантного протеина D участие в противомикробной защите, более высокое его содержание в очаге воспаления у детей с врожденной пневмонией закономерно. Противомикробная функция СП-D реализуется за счет способности этого белка связываться с поверхностью микробной стенки и, тем самым, облегчать процесс опсонизации и последующего фагоцитоза патогенов [203]. Поэтому увеличение концентрации СП-D в БАЛЖ у детей с врожденной пневмонией имеет защитное действие.

В сыворотке крови на 3-й день жизни содержание СП-D у детей 1-ой группы составило 242,98 [180,4; 518,87] нг/мл, что было статистически значимо больше, чем у детей 2-ой группы – 146,74 [123,45; 183,92] нг/мл ( $p=0,000$ ). В физиологических условиях сурфактантный протеин D за пределами легочной ткани практически не определяется. Появление его в крови в значительных количествах связано с нарушением целостности альвеолярно-капиллярной мембраны, которое возможно, как при врожденной пневмонии, так и при респираторном дистресс синдроме. При обоих процессах (ВП и РДС) происходит увеличение порозности альвеолярно-капиллярной мембраны, за счет чего и происходит «вымывание» СП-D из альвеол в сосудистое русло. Увеличение порозности альвеолярно-капиллярной мембраны происходит и за счет механического повреждения, которое возникает при проведении респираторной терапии. Мы предполагаем, что у детей с врожденной пневмонией было более выраженное сочетанное (инфекционное и механическое в результате проведения ИВЛ) повреждение альвеолярно-капиллярной мембраны за счет инфекционного компонента, а также механического в результате ИВЛ, поскольку дети этой группы для стабилизации состояния требовали применения более агрессивных параметров вентиляции, как показал наш анализ респираторной терапии

обследованных детей. Это обусловило большее содержание СП-D в периферической крови у детей 1-ой группы, чем у детей 2-ой группы.

Полученная корреляционная связь между содержанием СП-D на 3-й день жизни в сыворотке крови у детей с врожденной пневмонией и индексом оксигенации ( $r=0,73$ ,  $p=0,02$ ), который является индикатором тяжести заболевания легких и агрессивности респираторной поддержки, также подтверждает наше мнение о более выраженном повреждении альвеолярно-капиллярного барьера у детей с врожденной пневмонией. С другой стороны, у детей с ВП больше синтезируется СП-D, соответственно и обнаруживается его в сыворотке крови больше.

В 1 месяц жизни у детей обеих групп происходило снижение содержания этого белка в сыворотке крови и его концентрация уже статистически значимо не различалась. Его содержание составило 187,61 [160,0; 236,32] нг/мл и 129,02 [123,6; 133,2] в группах соответственно ( $p=0,055$ ). Данный факт можно объяснить постепенным восстановлением альвеолярно-капиллярной мембраны в результате лечения. Индивидуальный анализ динамики содержания СП-D у детей с врожденной пневмонией в сыворотке крови показал, что статистически значимое снижение концентрации сурфактантного протеина D было неодинаковым в группе и зависило от исхода заболевания. У детей с выздоровлением от врожденной пневмонии происходило статистически значимое снижение содержания данного белка: 469,16 нг/мл на 3 д.ж. и 205,49 нг/мл в 1 месяц жизни ( $p=0,01$ ). У детей с формирующейся БЛД, такой динамики не отмечалось: 180,4 нг/мл на 3-й д.ж. против 172,02 нг/мл в 1 месяц жизни, что свидетельствует о сохраняющихся нарушениях в альвеолярно-капиллярной мембране.

Поскольку сурфактантный протеин D начинает синтезироваться у плода начиная с первого триместра беременности и его уровень повышается с увеличением гестационного возраста, мы предположили, что содержание СП-D в БАЛЖ будет зависеть и от массы тела при рождении. Наши предположения подтвердились лишь в группе детей с врожденной пневмонией: у детей с ЭНМТ содержание сурфактантного протеина D в лаважной жидкости было



статистически значимо меньше 287,08 [214,74; 716,81] нг/мл, чем у детей с ОНМТ 829,4 [620,85; 1011,49] нг/мл,  $p=0,01$ . В сыворотке крови содержание СП-D у детей с ЭНМТ также было статистически значимо меньше 194,86 [165,75; 406,23] нг/мл, чем у детей с ОНМТ 469,16 [180,5; 680,0] нг/мл,  $p=0,02$ , но к концу первого месяца жизни разница уже отсутствовала. Более низкое содержание СП-D в раннем неонатальном периоде у детей с ЭНМТ связано с более выраженной незрелостью легочной ткани, т.к. у этих пациентов гестационный возраст был статистически значимо меньше ( $p=0,000$ ) и составил 27 [26; 28] недель, чем у детей с ОНМТ, чей гестационный возраст составил 30 [29; 31] недель. Проведенный корреляционный анализ подтвердил полученные данные и выявил положительную корреляционную связь между гестационным возрастом ребенка и содержанием сурфактантного протеина Д в лаважной жидкости ( $r=0,49$ ,  $p=0,02$ ).

Т.к. у детей 1-ой группы меньший гестационный возраст был сопряжен с меньшим содержанием СП-D в лаважной жидкости и сыворотки крови на 3 день жизни, то мы предположили связь содержания сурфактантного протеина Д с исходом врожденной пневмонии, а именно формированием БЛД, поскольку общеизвестен факт об увеличении частоты БЛД у детей с более низким гестационным возрастом [71].

В результате исследования были получены данные, что содержание этого белка как в лаважной жидкости, так и в сыворотке крови на 3-ий д.ж. у детей, впоследствии сформировавших БЛД, было статистически значимо меньше, чем у пациентов, без БЛД. В БАЛЖ содержание СП-D у детей, сформировавших в последующем БЛД, составило 278,17 [213,73; 432,0] нг/мл против 777,39 [667,89; 950,49] нг/мл у детей не сформировавших БЛД в исходе пневмонии ( $p=0,004$ ). Проведенный корреляционный анализ подтвердил полученные результаты и выявил отрицательные взаимосвязи между концентрацией СП-D в лаважной жидкости и формированием БЛД ( $r=-0,66$ ,  $p=0,001$ ), а также концентрацией СП-D в крови на 3-ий д.ж. и формированием БЛД ( $r=-0,48$ ,  $p=0,026$ ). При этом степень зависимости формирования БЛД от уровня СП-D в лаважной жидкости и сыворотке крови на 3-ий д.ж. не различалась. Так образом, уровень СП-D как в

БАЛЖ, так и в сыворотке крови на 3-й д.ж. могут быть использованы в качестве потенциального биохимического предиктора в прогнозировании исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных детей, а именно в формировании БЛД.

Проведенный ROC-анализ значимости СП-D в прогнозировании исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных показал, что пороговое значение СП-D в лаважной жидкости составило 570,8 нг/мл, при снижении которого прогноз неблагоприятного исхода врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных осуществлялся с диагностической чувствительностью 100,0% и специфичностью 76,9%. При этом прогностическая значимость была определена как отличная, согласно шкале экспертной оценки AUC.

Таким образом, у детей с врожденной пневмонией высокая концентрация СП-D в лаважной жидкости играет защитную роль в плане формирования БЛД. Защитное действие реализуется за счет прямого антиинфекционного действия этого белка (в результате способности СП-D связываться с поверхностью микробной стенки и, тем самым, облегчать процесс опсонизации и последующего фагоцитоза патогенов), а также ингибирования высвобождения провоспалительных цитокинов, роль которых известна в патогенезе БЛД и участии в альвеоляризации [13, 24].

Научный интерес представляет и изучение белка клеток Клара, который также является пневмопротеином и выполняет противовоспалительную, иммуномодулирующую и восстанавливающую функции дыхательных путей. Мы изучили содержание БКК у глубоко недоношенных новорожденных в БАЛЖ и сыворотке крови на 3-й д.ж., а также в сыворотке крови в конце 1 месяца жизни. Исследование показало, что содержание белка клеток Клара как в БАЛЖ, так и в сыворотке крови на 3-й д.ж. было статистически значимо больше у детей с врожденной пневмонией. Так, в БАЛЖ концентрация БКК у детей 1-ой группы составила 117,95 [70,8; 130,7] нг/мл против 70,25 [69,26; 80,29] у детей 2-й группы ( $p=0,041$ ). В сыворотке крови - 2,72 [1,45; 4,35] нг/мл и 1,98 [0,9; 2,33] в 1-ой и 2-

ой группах соответственно,  $p=0,018$ . Учитывая функции изучаемого белка, увеличение синтеза БКК у детей с ВП происходит в ответ на воспаление легочной ткани и имеет защитное действие. Противовоспалительное действие БКК реализуется путем ингибирования активности различных провоспалительных факторов [184]. Поскольку БКК свободно проходит через альвеолярно-капиллярную мембрану и элиминируется почками, более высокое содержание этого протеина в сыворотке крови у детей с ВП, в сравнении с детьми без ВП, закономерно: больше синтезируется – больше элиминируется.

Анализ динамики концентрации БКК в сыворотке крови к концу 1 месяца жизни выявил, что у детей с ВП происходило статистически значимое снижение уровня этого белка, по сравнению с исходным (на 3-й день жизни) как в группе детей с врожденной пневмонией ( $p=0,004$ ), что, возможно, связано с устранением инфекционных патогенов, так и в группе детей с респираторным дистресс синдромом ( $p=0,01$ ).

Учитывая, что БКК начинает синтезироваться внутриутробно с 15-ой недели гестации, мы предположили, что его содержание также будет зависеть от массы тела при рождении (соответственно и гестационного возраста). Индивидуальный анализ концентрации БКК у детей с врожденной пневмонией в зависимости от массы тела при рождении не показал статистически значимых различий. В литературе также нами не найдены данные об увеличении содержании данного протеина с увеличением гестационного возраста. Незначительные различия получены в содержании БКК в сыворотке крови: у детей с ЭНМТ 2,05 [1,36; 3,89] нг/мл, что было в 1,8 раза ниже, чем у детей с ОНМТ (3,75 [1,98; 4,65],  $p=0,74$ ).

Мы провели анализ содержания на 3-й д.ж. в лаважной жидкости, а также сыворотке крови белка клеток Клара в группе детей с врожденной пневмонией в зависимости от исхода заболевания (выздоровление или формирование БЛД) и выявили статистически значимые различия. Содержание этого протеина у детей, которые в последующем сформировали бронхолегочную дисплазию в исходе врожденной пневмонии, было статистически значимо ниже, чем у детей,

выздоровевших от пневмонии. Так, в лаважной жидкости, концентрация БКК у детей с БЛД составила 35,18 [28,2; 67,0] нг/мл против 129,8 [101,8; 130,8] нг/мл у детей с исходом в выздоровление от врожденной пневмонии,  $p=0,035$ . В сыворотке крови на 3-й день жизни - 1,45 [1,35; 2,12] нг/мл и 3,75 [2,98; 4,35] нг/мл с БЛД и без БЛД соответственно,  $p=0,01$ . Однако к концу первого месяца жизни эта разница отсутствовала и статистически значимых различий в содержании этого белка в сыворотке крови в группах не было: 0,41 [0,38; 0,97] нг/мл в 1-ой группе и 1,01 [0,036; 2,59] во 2-ой,  $p=0,42$ . Отсутствие значимой разницы в возрасте 1 месяц у детей со сформировавшейся БЛД и без таковой может быть объяснено тем, что наибольший вклад в повреждение легких, приводящее к формированию БЛД, имеет именно перинатальное воздействие инфекции (отражением которой является высокий уровень БКК), которое совместно с инвазивной механической вентиляцией легких, воздействием гипероксии, генетическими факторами является пусковым фактором, инициируя сигнальные пути иммунного каскада и вызывая иммунную дисрегуляцию, приводя к стойким структурным и функциональным изменениям в легких [163]. Поэтому концентрация БКК в сыворотке крови к концу 1 месяца жизни, вероятно, уже не имеет значения, т.к. БЛД к этому моменту структурно сформировано.

Полученные результаты подтверждают, что высокая концентрация БКК у детей с врожденной пневмонией имеет протективное значение. Его низкое содержание у детей этой группы способствует формированию БЛД. Вероятно, защитное действие БКК реализуется за счет антипротеазной активности этого белка в отношении эластазы полиморфноядерных лейкоцитов человека [184], поскольку избыточная продукция эластазы нейтрофилами является одним из важных факторов формирования фиброза легких, что лежит в основе БЛД [2]. Другой механизм, который может приводить к развитию БЛД в исходе врожденной пневмонии при низком содержании БКК – избыточный синтез секреторной фосфолипазы А2, поскольку БКК блокирует этот фермент. Учитывая функции секреторной фосфолипазы А2, ее высокая концентрация в фарингеальном аспирате может отражать интенсивность воспалительных

процессов в легких, что может иметь негативный эффект за счет разрушения липидного компонента мембран клеток легочной ткани и непосредственного разрушения сурфактанта и способствовать формированию бронхолегочной дисплазии.

Мы провели исследование содержания секреторной фосфолипазы A2 между обследуемыми группами в фарингеальном аспирате и сыворотке крови и получили, что при врожденной пневмонии ее содержание в фарингеальном аспирате было статистически значимо больше, чем у детей без таковой (76,66 [64,0;89,9] пг/мл и 55,34 [48,8;77,7] пг/мл в группах соответственно,  $p=0,000$ ). Но в сыворотке крови содержание этого фермента в исследуемых группах статистически значимо не различалось

По результатам исследования был разработан способ прогнозирования бронхолегочной дисплазии у новорожденных с врожденной пневмонией по уровню белка клеток Клара на 3-й день жизни в бронхоальвеолярной лаважной жидкости [81]. При его концентрации менее 53 нг/мл прогнозируют формирование бронхолегочной дисплазией у детей с врожденной пневмонией. Чувствительность способа составила 80,6%, специфичность 80,0%, точность - 80,4%. Внедрение данного способа в практику врача позволит задуматься о возможном применении синтетического рекомбинантного белка клеток Клара у глубоко недоношенных детей с целью профилактики формирования БЛД.

Исследованиями последних лет установлено, что в патогенезе формирования БЛД большое значение имеют генетические факторы [97, 242]. Проводя генетическое исследование у обследованных детей мы проанализировали не только полиморфные варианты генов системы детоксикации и HLA II класса, ассоциированных с развитием пневмонии, но и с развитием БЛД. Среди пациентов, которым было проведено молекулярно-генетическое обследование, у 50 детей исходом респираторной патологии явилось формирование бронхолегочной дисплазии. При этом у 15 детей была диагностирована классическая форма БЛД, у 35 – новая.

В исследовании Фетисовой И.Н. (2017) было показано, что аллели *DRB1\*17*, *DQB1\*0201* и *DRB1\*01*, а также генотипы *DRB1\*17/DQB1\*0201*, *DRB1\*17/DQA1\*0501*, *DRB1\*01/DQA1\*0101* ассоциированы с развитием БЛД. Напротив, генотип *DQA1\*0301/DQB1\*0501* определялся только у детей без БЛД и его можно считать протективным в отношении формирования БЛД. Проведенное нами дальнейшее исследование (также под руководством д.м.н. Фетисовой И.Н.) показало причастность полиморфизма генов системы детоксикации (семейства глутатион-S-трансфераз) к формированию бронхолегочной дисплазии. Так, у детей со сформировавшейся БЛД статистически значимо чаще, чем у детей без данной патологии, встречались «нулевые» варианты генов *GSTM1* и *GSTT1*, а сочетанное присутствие делеционных вариантов генов *GSTM1* и *GSTT1* было отмечено только у детей с БЛД. Напротив, наличие аллелей «дикого типа» генов семейства глутатион-S-трансфераз *GSTM1* + и *GSTT1* + и их сочетанное присутствие в генотипе статистически значимо чаще было диагностировано у детей без БЛД, что может предположительно указывать на их протективное значение в отношении формирования хронической патологии бронхолегочной системы.

С учетом роста в последнее время резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, все большую значимость приобретает использование альтернативных препаратов с антибактериальным эффектом. В этом плане перспективными являются антимикробные пептиды, которые вырабатываются в организме человека и в настоящее время ведутся активные разработки их синтетических аналогов. Одним из представителей антимикробных пептидов является кателицидин LL37. Мы изучили его содержание у 61 ребенка с врожденной пневмонией (1 группа) и у 43 детей без врожденной пневмонии (2 группа). Содержание КЦ LL37 исследовали в сыворотке крови (на 1 день жизни и в месяц жизни) и фарингеальном аспирате (в 1–2-е сутки жизни).

При анализе результатов между исследуемыми группами были получены статистически значимые различия по содержанию кателицидина LL37 в фарингеальном аспирате. У детей с врожденной пневмонией концентрация

исследуемого кателицидина была статистически значимо больше, чем в группе детей без таковой (10,55 [8,11; 21,24] нг/мл и 6,63 [3,32; 9,52] нг/мл в группах соответственно,  $p=0,008$ ). Наши данные согласуются с исследованием Schaller-Bals (исследование белка проводилось в трахеальном аспирате). Полученные нами результаты о повышении содержания кателицидина LL в фарингеальном аспирате при врожденной пневмонии носит защитный характер и связано с активацией локального иммунитета в ответ на воспаление. Реализация противовоспалительного действия этого пептида связана с прямым его воздействием на фосфолипиды мембранам инфекционных агентов с образованием трансмембранных пор и лизисом патогенов [328] и различными модулирующими свойствами в отношении иммунной системы [248].

Оценка содержания КЦ LL37 на 1-е сутки жизни в сыворотке крови не показала статистически значимых различий у обследованных новорожденных. Концентрация исследуемого протеина составила 1,52 [0,31; 4,38] нг/мл у детей 1-ой группы и 1,68 [0,53; 4,88] нг/мл во 2-ой группе,  $p=0,61$ . По всей вероятности, это связано с тем, что дети обеих групп внутриутробно развивались в достаточно одинаковых условиях, как показал наш анализ соматической патологии матерей, течения беременности и родов, патоморфологического исследования плацент.

В динамике неонатального периода отмечается статистически значимое увеличение этого показателя в сыворотке крови в обеих группах, хотя между группами статистически значимой разницы выявлено не было. Содержание кателицидина LL37 у детей 1-ой группы в месяц жизни составило 6,87 [4,05; 14,55] нг/мл, у детей 2-ой группы - 7,17 [4,56; 11,85],  $p=0,87$ . Это обстоятельство может быть связано с тем, что при рождении у преждевременно родившихся детей функциональная активность нейтрофилов снижена, а антимикробные пептиды вырабатываются в том числе и нейтрофилами [1]. После рождения на организм ребенка активно воздействуют много различных факторов внешней среды (в т.ч. антигенные), что приводит к усилению выработки антимикробных пептидов. Таким образом, полученные нами данные об увеличении содержания в

крови изучаемого кателицидина к концу неонатального периода обоснованы и могут свидетельствовать, в том числе, и об увеличении функциональной активности нейтрофилов.

Индивидуальная оценка содержания кателицидина LL37 у детей с врожденной пневмонией в фарингеальном аспирате и сыворотке крови показала, что его концентрация была разной и зависела от исходов заболевания: выздоровление, формирование БЛД и летальный исход. Так, в фарингеальном аспирате в 1-й день жизни наименьшее содержание изучаемого пептида было у умерших детей (7,92 [2,23; 9,04] нг/мл), наибольшее – у детей, сформировавших БЛД (28,25 [22,85; 36,04] нг/мл), средние значения - у детей, выздоровевших от врожденной пневмонии (10,98 [8,3; 19,02] нг/мл). Такая же ситуация сложилась и с содержанием КЦ LL37 в сыворотке крови в 1-й день жизни: наименьшее содержание изучаемого пептида было у умерших детей (0,9 [0,24; 2,79] нг/мл), наибольшее – у детей, сформировавших БЛД (11,52 [3,71; 13,95] нг/мл), средние значения – у детей, выздоровевших от врожденной пневмонии (1,43 [0,37; 6,26] нг/мл). Учитывая, что содержание кателицидина LL37 сопряжено с ответом иммунной системы на воспаление, вероятно, что при летальном исходе выработка этого пептида была недостаточной, при формировании БЛД – чрезмерной. Наши выводы базируются на патофизиологических механизмах действия данного пептида, поскольку направленность иммунного ответа (провоспалительный или противовоспалительный) при воздействии КЦ LL37 зависит от окружающего клеточного контекста, а также дозы самого пептида. Научные исследования, показали, что эпителий дыхательных путей более чувствителен к умеренным дозам КЦ LL37 [359], что подтвердилось и в нашем исследовании. При этом избыточная экспрессия КЦ LL37 может оказывать провоспалительные эффекты [266], имея значение в формировании БЛД у глубоко недоношенных детей.

Проведенный ROC-анализ также подтвердил, что концентрация кателицидина LL37 сопряжена с исходом врожденной пневмонии. Проведенный расчет отношения шансов выявил увеличение риска наступления летального исхода у детей с врожденной пневмонией при содержании КЦ LL 37 в



фарингеальном аспирате менее 10,2 нг/мл (OR=13,5, 95%-й ДИ 1,9–96,5). По данным результатам был разработан способ прогнозирования исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных детей. При содержании кателицидина LL 37 фарингеального аспирате меньше 10,2 нг/мл прогнозируют летальный исход. Специфичность способа составила 90%, точность - 80%, чувствительность – 77% [82].

Использование разработанного нами способа прогнозирования наступления летального исхода у детей с врожденной пневмонией позволит применить персонифицированный подход к лечению пациентов и таким образом улучшить исходы врожденной пневмонии.

В последние годы проводится много исследований, посвященных ассоциациям различных генов с наступлением летального исхода, в частности синдрома внезапной смерти у взрослого населения [40].

Мы также предположили, что и у детей может быть выявлена причастность полиморфизмов генов системы детоксикации и HLA II класса к развитию неблагоприятного исхода (летальный исход, инвалидность со стойким нарушением здоровья). Таких детей (с неблагоприятным исходом) в результате проведенного нами генетического исследования оказалось 22. Дополнительно проведенный анализ клинико-анамнестических данных показал, что дети с неблагоприятным исходом родились достоверно менее зрелыми. Дети с благоприятным исходом родились на сроке гестации 29 [27; 30] недель, дети с неблагоприятным исходом – в 27 [26; 29] недель, ( $p=0,0004$ ). При этом основные показатели физического развития (масса тела при рождении и длина) были также статистически значимо меньше у детей с неблагоприятным исходом.

Проведенное генетическое исследование выявило статистически значимые различия в обследуемых группах. Так, у детей с неблагоприятным исходом статистически значимо чаще, чем у детей с благоприятным исходом в генотипе присутствует аллель *DQA1\*0301* (28,6 и 14,9% соответственно,  $p=0,041$ , OR=2,29, 95%-й ДИ (1,035-5,080)). Генотип *GSTM1*+/+ *GSTT1*+/+ *DRB1\*13* *DQA1\*0301*

*DQB1\*0602* определялся только у детей с неблагоприятным исходом (OR=20,95, 95%-й ДИ (2,49-175,6),  $p=0,041$ ).

В ходе анализа результатов нашего исследования, среди генетически обследованных пациентов в отдельную группу были выделены дети с летальным исходом (10 детей). У этих детей были выявлены следующие особенности генотипа. Наличие аллеля *DQA1\*0401* статистически значимо чаще было отмечено у детей с летальным исходом (OR=8,24, 95%-й ДИ (1,5-44,7),  $p=0,014$ ). А наличие генотипов *GSTM1 - GSTT1 +/+ DRB1\*11 DQA1\*0501 DQB1\* 0301* и *GSTM1 - GSTT1+/+ DRB1\*15 DQA1\*0102 DQB1\*0602* в 17 раз увеличивает риск наступления летального исхода.

Врожденная пневмония играет существенную роль в возникновении различных нарушений здоровья у детей не только в неонатальном и постнеонатальном периоде, но и в отдаленные периоды жизни. Одной из задач нашего исследования была оценка состояния здоровья детей, включенных в исследование, в неонатальном периоде и до выписки из стационара, а также проведение комплексной оценки состояния здоровья в возрасте трех лет. Необходимо отметить, что дети с врожденной пневмонией имели статистически значимо меньший гестационный возраст – 28 [27; 30] недель против 30 [27; 30] недель во 2 группе,  $p=0,0003$ . По основным параметрам физического развития (масса тела, длина, окружность головы) также имелись статистически значимые различия. Количество детей с ЭНМТ и ОНМТ при рождении, а также с ЗВУР в группах было сопоставимо.

Уже с момента рождения дети 1-ой группы демонстрировали худшее состояние и требовали больше усилий по их стабилизации в родильном зале. В состоянии тяжелой асфиксии родилось 76 (48,4%) пациентов 1-ой группы, в то время как во 2-ой группе – только 33 (28,2%) ребенка ( $p=0,009$ ). Кроме того, в 1-ой группе было статистически значимо больше детей, у которых на фоне проводимых реанимационных мероприятий сохранялась оценка по шкале Апгар менее 3-х баллов к 5-ой минуте жизни (22 (14,0%) ребенка 1-ой группы против 5 (4,3%) детей 2-ой группы,  $p=0,006$ ). Это свидетельствует о том, что дети без

врожденной пневмонии на этапе родильного зала на фоне проводимых реанимационных мероприятий стабилизировались быстрее. Более выраженные дыхательные нарушения регистрировались статистически значимо чаще также у детей с врожденной пневмонией. Оценка дыхательных нарушений по шкале Сильверман (медиана) составила 5 [4; 6] баллов в 1-ой группе, 4 [4; 5] балла – во 2-ой группе ( $p=0,01$ ). У трети детей с врожденной пневмонией применялись масочная и эндотрахеальная ИВЛ для стабилизации состояния, в то время как дети без врожденной пневмонии более чем в 50% случаев стабилизировались с помощью методики СРАР. 68,2% детей 1-ой группы потребовали дополнительный  $O_2$  в родильном зале для достижения целевой сатурации против 46,2% детей 2-ой группы ( $p=0,0003$ ). Учитывая, что в патогенезе дыхательных нарушений у глубоко недоношенных новорожденных большую роль играют такие факторы как незрелость легочной ткани и первичный дефицит сурфактанта, то для купирования дыхательной недостаточности использовалось эндотрахеальное введение препаратов экзогенного сурфактанта. Введение сурфактанта в родильном зале проводилось статистически значимо чаще детям 1-ой группы – 51 (32,5%) ребенок, в то время как во 2-ой группе сурфактант был введен 15 (12,8%) пациентам,  $p=0,001$ .

После перевода в ОРИТН, детям на респираторной поддержке методом СРАР, не получившим сурфактант на этапе родильного зала (в отсутствии показаний), в связи с нарастающей зависимостью от кислорода ( $FiO_2$  0,35 у пациентов с ЭНМТ и до 0,4 у детей с ОНМТ) проводилось раннее терапевтическое введение препарата экзогенного сурфактанта в первые 3-6 часов жизни. Такое лечение получили 24 (15,3%) ребенка 1-ой группы и 46 (39,3%) детей 2-ой группы ( $p=0,000$ ). Повторное введение препарата экзогенного сурфактанта применялось статистически значимо чаще у детей 1-ой группы в сравнении со 2-ой группой (43(34,1% от детей, получивших сурфактант) и 11 (16,4%) новорожденных в группах соответственно,  $p=0,008$ ).

Проведенный статистический анализ осложнений респираторной поддержки, показал, что возникновение синдрома утечки воздуха (пневмоторакс,

пневмомедиастинум, пневмоперикард), было выявлено только у пациентов 1-ой группы – 7 (4,5%) детей,  $p=0,02$ . Данное различие могло быть обусловлено, тяжестью и дальнейшим прогрессированием инфекционного процесса, а также эрготравмой легочной ткани в результате вынужденной агрессивной ИВЛ, направленной на стабилизацию и поддержку респираторной системы пациентов первой группы. Легочное кровотечение может быть рассмотрено и как осложнение проведения ИВЛ, так и проявление некоторых патологических процессов (в том числе инфекционных). Данное осложнение было диагностировано у детей обеих групп, однако статистически значимо чаще оно регистрировалось у пациентов 1 группы (16 (10,2%) и 3 (2,6%) в группах соответственно,  $p=0,01$ ).

В исходе дыхательных нарушений различной этиологии у глубоко недоношенных детей может формироваться бронхолегочная дисплазия (БЛД). В патогенезе БЛД большое значение имеет перинатальная инфекционная патология. Тяжелое течение инфекционных заболеваний бронхолегочной системы значимо утяжеляет состояние новорожденного ребенка за счет развития системного воспалительного процесса и дестабилизации кардиореспираторной системы. Использование эндотрахеальной респираторной поддержки с «жесткими» параметрами у преждевременно родившихся детей с пневмонией способствует повреждению легочной ткани, что сопряжено с повышенным риском формирования вентилятор-ассоциированных повреждений легких новорожденного с последующим исходом в бронхолегочную дисплазию [71]. Наше исследование также показало, что у детей с врожденной пневмонией БЛД формируется статистически значимо чаще, чем у детей без врожденной пневмонии (47 (29,9%) и 9 (7,7%) детей в группах соответственно,  $p=0,000$ ). Расчет отношения шансов показал, что наличие врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных увеличивает риск развития БЛД ( $OR=5,13$ , 95%-й ДИ 2,4-10,97).

Проведенный корреляционный анализ также подтвердил влияние местного инфекционного процесса на формирование БЛД ( $r=0,2$ ,  $p=0,001$ ). В этой связи

возникает вопрос: что имеет большую значимость в формировании БЛД – врожденная пневмония или срок гестации, поскольку в нашем исследовании также выявлена взаимосвязь между сроком гестации и формированием БЛД ( $r = -0,25$ ,  $p = 0,000$ ). Проведенный статистический анализ показал, что степень зависимости формирования БЛД как от гестационного возраста, так и от наличия врожденной пневмонии не различалась.

В результате проведенного стандартного обследования в ОРИТН детей, включенных в исследование, было выявлено, что дети 2-ой группы имели также инфекционную патологию. Инфекционно-воспалительная патология в обеих группах (кроме врожденной пневмонии у детей 1-ой группы) была представлена таковой со стороны ЦНС, мочевыделительной системы, желудочно-кишечного тракта. Только бактериальный менингит статистически значимо чаще встречался у детей с врожденной пневмонией: 13 (8,3%) пациентов 1-ой группы и 3 (2,6%) пациентов 2-ой группы ( $p = 0,03$ ). Остальная инфекционно-воспалительная патология встречалась в группах без статистически значимой разницы. Неонатальная инфекция мочевых путей диагностирована у 32 (20,4%) и 17 (14,5%) детей в группах соответственно ( $p = 0,24$ ). Неонатальный гепатит – у 6 (3,8%) и 2 (1,7%) детей в группах соответственно ( $p = 0,30$ ).

Некротизирующий энтероколит представляет собой воспаление кишечной стенки с последующим её некрозом, в патогенезе которого большую роль играет бактериальная колонизация [295]. Это заболевание было выявлено у 43 (27,4%) детей 1-ой группы и 37 (31,6%) пациентов 2-ой группы ( $p = 0,45$ ). Чаще диагностировалась I-II стадия заболевания по классификации Bell et al. (1978) в модификации Walsh and Kliegman (1987).

В 8 случаях у детей 1-ой группы был диагностирован ранний неонатальный сепсис. То есть у 149 (94,9%) детей 1-ой группы врожденная пневмония диагностирована изолированно, у 8 детей - в составе системного воспалительного процесса. У детей 2 группы также был диагностирован ранний неонатальный сепсис, но только в 2 (1,7%) случаях,  $p = 0,13$ .

На рестриктивные характеристики легочной ткани большое значение оказывает состояние артериального протока, при этом гемодинамически значимый функционирующий артериальный проток с лево-правым шунтированием усугубляет течение РДС, снижая оксигенацию и перфузию различных органов и систем, с развитием ранних и отдаленных последствий. Проведенный нами анализ результатов доплерэхокардиографического исследования, которое было выполнено в первые 48 часов жизни, показал, что более половины детей каждой группы имели функционирующий артериальный проток (у 84 (53,5%) и 72 (61,5%) детей в группах соответственно,  $p=0,18$ ). Однако ГЗ ФАП с лево-правым шунтированием статистически значимо чаще был диагностирован у пациентов 1-ой группы. Т.о., наличие врожденной пневмонии увеличивает риск гемодинамически значимого артериального протока ( $OR=13,0$ , 95%-й ДИ 1,66-12,04), наличие которого в свою очередь усугубляет тяжесть респираторной патологии. Лечение ГЗ ФАП проводили внутривенной формой ибупрофена и было проведено у 9 детей с врожденной пневмонией и у 1 ребенка без данной патологии.

При анализе перинатальных поражений ЦНС, которое было диагностировано у всех детей, включенных в исследование, выявлено, что у детей с врожденной пневмонией чаще регистрировали ЦИ III степени (у 49 (31,2%) детей 1-ой группы против 10 (8,5%) во 2-ой,  $p=0,000$ ). Статистически значимо чаще ВЖК были выявлены также у пациентов с врожденной пневмонией (144 (91,7%) и 78 (66,6%) детей в группах соответственно,  $p=0,000$ ). Среди ВЖК преобладали ВЖК I степени без статистически значимой разницы в группах (у 67 (46,5%) детей 1-ой группы и 46 (58,9%) детей во 2-ой группе,  $p>0,5$ ). В единичных случаях развились ВЖК III степени также без статистически значимой разницы в группах (у 9 (6,3) и 2 (2,6%) детей в группах соответственно,  $p>0,5$ ). Но ВЖК II степени статистически значимо чаще диагностированы у детей с врожденной пневмонией (у 49 (34,0%) пациентов 1-ой группы против 7 (9,0%) во 2-ой группе,  $p=0,000$ ). Двусторонние ВЖК (чаще I степени) диагностированы у 19 (13,3%) детей 1-ой группы и у 23 (29,5%) детей 2-ой группы ( $p=0,001$ ). САК развивались

редко, но также достоверно чаще у детей с врожденной пневмонией (у 20 (12,7%) пациентов 1-ой группы против 4 (3,4%) во 2-ой группе,  $p=0,008$ ). Интерес представляет частота перивентрикулярной лейкомаляции у обследованных новорожденных, поскольку именно эта патология ЦНС играет ведущую роль в формировании инвалидизирующих и дезадаптирующих состояний нервной системы. Проведенный анализ показал, что ПВЛ развилась у 10 (6,4%) пациентов 1-ой группы и только у 1 (0,9%) ребенка 2-ой группы ( $p=0,03$ ). Данная ситуация является объяснимой, поскольку в генезе ПВЛ ряд авторов важную роль отводят эндотоксинам и медиаторам воспаления [140].

Расчёт отношения шансов показал, что наличие врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных увеличивает риск развития церебральной ишемии III степени ( $OR=4,85$ , 95%-й ДИ 2,34–10,08), ВЖК ( $OR=5,55$ , 95%-й ДИ 2,79–10,99), ВЖК II степени ( $OR=5,23$ , 95%-й ДИ 2,24–12,23), САК ( $OR=4,12$ , 95%-й ДИ 1,37–12,47), ПВЛ ( $OR=7,89$ , 95%-й ДИ 1,0–62,54).

Особого внимания заслуживает тяжелая анемия, т.к. требует для коррекции трансфузии эритроцитной массы. Статистически значимо чаще данное состояние диагностировано у детей в отделении патологии новорожденных и выхаживания недоношенных и было выявлено у 71 (45,2%) ребенка с врожденной пневмонией и 36 (30,8%) детей без данной патологии ( $p=0,016$ ). Анемия недоношенных имеет мультифакторный генез, в том числе и инфекционный. При инфекционных процессах увеличивается продукция белков острой фазы, в том числе ферритина и гепсидина, которые принимают участие в обмене железа в организме. При заболеваниях, сопровождающихся длительной циркуляцией в плазме провоспалительных цитокинов, происходит задержка железа в клетках ретикуло-эндотелиальной системы и перегрузка их железом в составе ферритина. При этом ферритин начинает превращаться в гемосидерин. Гемосидерин крайне медленно деградирует, но, в то же время прочно связывает железо, не позволяя ему высвободиться, что приводит к снижению содержания железа в сыворотке крови. В последующем, большие количества гемосидерина подвергаются аутофагоцитозу. Повышенный уровень гепсидина при воспалении приводит к

снижению всасывания железа в кишечнике. Вышеперечисленные процессы способствуют развитию анемии у недоношенных детей [38, 217].

Ретинопатия недоношенных статистически значимо чаще также была диагностирована у детей с врожденной пневмонией – у 37 (23,6%) пациентов 1-ой группы и лишь у 14 (11,9%) 2-ой ( $p=0,02$ ). Это связано с тем, что у детей данной группы статистически значимо чаще имелись такие факторы риска формирования РН как более низкий гестационный возраст, тяжелая асфиксия при рождении, проводимая традиционная ИВЛ. Ретинопатию недоношенных как 1, так и 3 стадии определялась в группе без статистически значимых различий. В обеих группах преобладала ретинопатия 1 стадии – более половины случаев. 2 стадия РН у детей с врожденной пневмонией встречалась статистически значимо чаще (9 (24,3%) и 2 (14,3%) пациентов в группах соответственно,  $p=0,04$ ). У большинства детей произошел регресс заболевания. При прогрессировании РН до пороговых стадий детям проводили транспупиллярную лазерную коагуляцию аваскулярных зон сетчатки с помощью лазерной установки Pascal. Только у двух (1,3%) детей 1-ой группы произошло дальнейшее прогрессирование заболевания, что потребовало добавочной лазерокоагуляции, у одного ребенка – витрэктомии.

Нарушения слуха были выявлены у 13 (11,3 %) детей обеих групп (10 (6,4%) детей 1-ой группы и 3 (2,6%) ребенка 2-ой группы,  $p=0,14$ ). В последующем, у 11 детей нарушения слуха не были выявлены, что, вероятно, связано с созревaniem звукопроводящих путей.

Мы проанализировали схемы антибактериальной терапии и их количество, а также, частоту гемотрансфузий и трансфузий свежзамороженной плазмы.

Стартовая антибактериальная терапия была идентичной у всех детей, включенных в исследование, и представляла собой комбинацию полусинтетического пенициллина с аминогликозидом с переходом, в последующем (при необходимости), на другие схемы, в зависимости от результатов бактериологического исследования.

При анализе длительности и количества курсов антибактериальной терапии было выявлено, что один курс антибактериальной терапии был использован



статистически значимо чаще у детей 2-ой группы – у 21 (17,9%) ребенка, в 1-ой группе – лишь у 8 (5,1%) пациентов ( $p=0,001$ ). Более половины детей (84-53,5%) с врожденной пневмонией потребовали применения 3-х и более курсов антибактериальной терапии против 31 (26,5%) ребенка без врожденной пневмонии ( $p=0,000$ ).

Трансфузию эритроцитной массы с целью восстановления кислородной емкости крови и оптимизация тканевой оксигенации проводили у 75 (47,8%) пациентов 1-ой группы и 36 (30,8%) 2-ой группы с тяжелой анемией,  $p=0,004$ . Только детям 1-ой группы (у 4 из 75 (5,3%)) проводили повторные гемотрансфузии. Расчёт отношения шансов показал, что наличие врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных увеличивает риск развития тяжелой анемии ( $OR=2,06$ , 95%-й ДИ 1,25–3,4).

Также статистически значимо чаще у детей с врожденной пневмонией с целью профилактики/купирования геморрагических осложнений проводили трансфузию свежзамороженной плазмы (у 77 (49,0%) пациентов 1 группы против 40 (34,2%) во 2-ой,  $p=0,014$ ).

Проведен анализ длительности пребывания в ОРИТН, длительности пребывания в стационаре, а также летальность среди новорожденных, включенных в исследование.

Длительность пребывания в ОРИТН новорожденных, включенных в исследование, составила 12 [9; 18,5] дней у детей с врожденной пневмонией против 8 [6; 12] дней у детей без таковой ( $p=0,000$ ).

Длительность пребывания в стационаре детей обеих групп статистически не различалась и составила 65 [56; 72] и 59 [45; 68] дней в группах соответственно. Однако, после проведенного лечения в отделении патологии новорожденных и II этапа выхаживания недоношенных детей, некоторые пациенты нуждались в продолжении лечения в специализированных стационарах и были переведены в другие учреждения здравоохранения. Чаще всего это было пульмонологическое отделение. Таких детей было статистически значимо больше в группе с

врожденной пневмонией: 27 (17,2%) детей из первой группы и только 8 (6,83%) из второй ( $p=0,01$ ).

В проведенном нами исследовании была проанализирована летальность и её структура среди обследованных пациентов. В группе детей с врожденной пневмонией умерло 27 (17,1%) детей, в то время как в группе без врожденной пневмонии – 8 (6,8%) ( $p=0,01$ ). Расчет отношения шансов показал, что наличие врожденной пневмонии увеличивает риск наступления летального исхода ( $OR=3,26$ , 95%-й ДИ 1,37–7,78).

В первой группе подавляющее большинство детей (13 – 48,1%) умерло в раннем неонатальном периоде, 7 (25,9%) детей – в позднем неонатальном периоде, 5 (18,5%) – в постнеонатальном периоде и 2 (7,4%) ребенка в возрасте старше года. Во второй группе по 2 (25,0%) ребенка умерло в раннем и позднем неонатальном периоде, 3 (37,5%) в постнеонатальном периоде, 1 (12,5%) ребенок в возрасте старше года.

Проведенный анализ состояния детей, включенных в исследование, показал, что врожденная пневмония влияет на показатели здоровья, ухудшая их и увеличивая летальность. Это связано с тем, что врожденная пневмония, возникшая в результате внутриутробного или интранатального инфицирования, запускает ряд непосредственных и опосредованных эффектов на все органы и ткани [243]. Непосредственное воздействие связано с прямым действием возбудителя, в первую очередь, на клетки респираторного тракта у детей. Кроме того, у части обследованных детей пневмония являлась частью системного инфекционного процесса, и возбудитель действовал также и на другие органы и системы. Бактериальная или вирусная флора в дистальных дыхательных путях и возникающая в результате воспалительная реакция приводят к клеточному повреждению, которое нарушает газообмен, нарушает легочную вентиляцию и мешает нормальной дыхательной механике. При инфицировании бактериальной флорой первоначальное повреждение клеток возникает как в результате прямого воздействия бактериями, так и их токсинами [142]. Вирусные агенты вызывают лизис или апоптоз альвеолоцитов, которые являются вирусными клетками-

хозяевами при легочной инфекции [255]. Опосредованные эффекты, по нашему мнению, могут быть связаны с запуском цитокинового механизма в результате инфекционного процесса и оксидативного стресса в результате использования более высоких концентраций кислорода при проведении респираторной поддержки детям 1-ой группы с целью обеспечения оптимальной оксигенации. Реоксигенация и гипероксия, которые возникают у детей с врожденной пневмонией при проведении респираторной поддержки с использованием высоких концентраций кислорода, приводят к развитию или усилению оксидативного стресса, что негативно сказывается практически на все органы и ткани новорожденного, включая развитие альвеол. Увеличение выработки провоспалительных цитокинов в центральной нервной системе вызывает вазоконстрикцию сосудов головного мозга, провоцируя нарушение регуляции эндотелиального сосудистого фактора роста. Этот механизм, в последующем, приводит к формированию церебральной ишемии и ретинопатии недоношенных, нарушению регуляции кровотока в артериальном протоке и малом круге кровообращения, принимает участие в развитии некротизирующего энтероколита и т. д. [301].

Кроме того, у недоношенных детей с врожденной пневмонией наблюдается преимущественно провоспалительная направленность иммунного ответа, что отражается, в том числе, в повышенном содержании цитокинов в различных жидкостях новорожденного [35, 78, 141].

Оптимизация обследования и лечения может снизить летальность не только при данном заболевании, но и у всех глубоко недоношенных детей. Однако важно не только минимизировать риски наступления летального исхода, но и сохранить качество жизни пациентов на высоком уровне и в отдаленные периоды жизни.

В соответствии с целями и задачами данного исследования после выписки из стационара было проведено катамнестическое наблюдение за детьми до достижения ими возраста 3 лет. До 3-летнего возраста наблюдалось 115 детей, из них 62 ребенка из 1-ой группы и 53 ребенка – из 2-ой группы. Им была проведена комплексная оценка состояния здоровья в возрасте 3-х лет на основании

следующих критериев [70]: наличие/ отсутствие функциональных нарушений и/или хронических заболеваний (состояний) с учетом клинического варианта и фазы течения патологического процесса; уровень функционального состояния основных систем организма; степень сопротивляемости организма неблагоприятным внешним воздействиям; уровень достигнутого развития и степень его гармоничности.

Физическое развитие у большинства обследованных детей (47 (75,8%) детей 1-ой группы, 44 (83,0%) детей 2-ой группы) соответствовало биологическому возрасту. Статистически значимо различалась лишь масса в исследуемых группах. У детей, родившихся с врожденной пневмонией, масса была меньше и составила 12300 [11400; 13300] грамм, против 13000 [11900; 14000] грамм у детей без врожденной пневмонии,  $p=0,029$ . Значения длины тела статистически значимо не различались и составили 90 [88;93] и 91,5 [87;93] см соответственно. Различные варианты отклонения от нормального физического развития встречались в группах с одинаковой частотой – у 15 (24,2%) и 9 (16,9%) детей в группах соответственно ( $p>0,05$ ). Полученные результаты оценки физического развития говорят о том, что практически каждый 5-й ребенок, родившийся глубоко недоношенным, демонстрирует отклонение показателей физического развития вплоть до 3-летнего возраста.

При оценке нервно-психического развития анализировали: познавательную и моторную функции, эмоциональную и социальную (контакт с окружающим миром) функции, речевое развитие. У 35 (56,4%) детей 1-ой группы и 34 (64,2%) детей 2-ой группы ( $p>0,05$ ), что составляет большинство, НПР соответствовало биологическому возрасту, т.е. имели I группу НПР. При отставании на 1 эпикризный срок, т.е. на 6 месяцев, у 12 (19,4%) детей из 1-ой группы и у 12 (22,6%) из 2-ой ( $p>0,05$ ) была диагностирована II группа НПР. В подавляющем большинстве дети имели задержку речевого развития. Задержка в развитии на 2 эпикризных срока имела место у 8 (12,9%) детей из 1-ой группы и у 5 (9,4%) – из 2-ой. У этих детей была III группа НПР. Детей с задержкой на 3 эпикризных срока было меньшинство – 5 (8,1%) детей в 1-ой группе и 2 (3,8%) во второй ( $p>0,05$ ). У

них была диагностирована IV группа НПР. Только 2 (3,2%) детей 1-ой группы имели задержку нервно-психического развития более, чем на 3 эпикризных срока. Эти пациенты имели детский церебральный паралич. Оценка их моторных функций по шкале GMFCS соответствовала 5 уровню.

Для глубоко недоношенных детей одной из специфических проблем является развитие бронхолегочной дисплазии. Ее клинические проявления регрессируют по мере созревания легочной ткани и роста ребенка. Поэтому в возрасте 3-х лет у детей с БЛД устанавливают исход данного заболевания. БЛД среди детей, включенных в исследование, была диагностирована чаще ( $p=0,0003$ ) у детей 1-ой группы – в 26 (41,9%) случаях. Из них у 5 пациентов была установлена инвалидность по этой патологии, которая была снята в возрасте 1 год. Клиническое выздоровление от БЛД было отмечено у 23 (88,5%) детей 1-ой группы было отмечено. Рецидивирующий бронхит в исходе бронхолегочной дисплазии сформировался у 3 пациентов. Проведенный ретроспективный, индивидуальный анализ показал, что все дети с исходом БЛД в рецидивирующий бронхит получили полный курс антенатальной профилактики РДС стероидами, всем эндотрахеально вводили препарат экзогенного сурфактанта. У двух пациентов была диагностирована классическая форма БЛД, препарат сурфактанта вводили им дважды.

Во 2 группе только у 6 (11,3%) детей была диагностирована БЛД. Клиническое выздоровление от данного заболевания отмечали во всех случаях.

Ретинопатия недоношенных, также являющаяся специфическим заболеванием глубоко недоношенных детей, угрожает формированием слепоты в следствие фиброваскулярной пролиферации незрелой сетчатки. У большинства детей, включенных в исследование, произошел регресс заболевания. При прогрессировании РН до пороговых стадий детям проводили транспупиллярную лазерную коагуляцию аваскулярных зон сетчатки с помощью лазерной установки Pascal. Только у двух (1,3%) детей 1-ой группы произошло дальнейшее прогрессирование заболевания, что потребовало добавочной лазерокоагуляции, у одного ребенка - витрэктомии. Проведенное катамнестическое исследование

показало, что у этих двух пациентов в последующем развилась слепота: у одного пациента - одного глаза, у второго – обоих глаз.

Нейросенсорная тугоухость вследствие незрелости слухового аппарата также может значимо влиять на качество жизни детей. В нашем исследовании было выявлено, что у 13 (11,3 %) детей обеих групп (10 детей 1-ой группы и 3 ребенка 2-ой группы) был зарегистрирован отрицательный результат аудиологического обследования методом вызванной отоакустической эмиссии, подтвержденный, в последующем методом коротколатентных слуховых вызванных потенциалов (КСВП). В последующем, у 11 детей нарушения слуха не были выявлены, что, вероятно, связано с созревaniem звукопроводящих путей. У 2 детей (из 1-ой группы) выявлена двухсторонняя нейросенсорная тугоухость III-IV степени, которая потребовала проведения операции кохлеарной имплантации на первом году жизни.

Частота инвалидности среди всех обследуемых детей в возрасте 3-х лет составила 15,6% – 18 детей. Но у детей, перенесших врожденную пневмонию, частота этого показателя была значимо выше ( $p=0,027$ ). Инвалидность имели 14 (22,6%) детей 1-ой группы. В этой группе в структуре инвалидности на первом месте были болезни нервной системы – 9 детей, на втором – заболевания глаз (3 ребенка), на третьем – тугоухость (2 ребенка). Во 2-ой группе инвалидность установлена только у 4 (7,5%) детей и была представлена болезнями нервной системы.

Уровень функционального состояния основных систем организма и степень сопротивляемости организма неблагоприятным внешним воздействиям оценивали путем сравнения показателей основных функциональных систем с нормативными параметрами (частота сердечных сокращений, частота дыхания, уровень артериального давления и т.д.). Анализ выявил нормальное функциональное состояние у подавляющего большинства детей: у 55 (88,7%) и 50 (94,3%) детей в группах соответственно ( $p>0,05$ ). В остальных случаях функциональное состояние у детей было ухудшенным. Причиной этого, чаще всего было снижение уровня гемоглобина ниже нормальных значений.

Степень сопротивляемости организма неблагоприятным внешним воздействиям определялась путем подсчета частоты острых заболеваний у детей на протяжении одного года жизни. Среди обследованных детей чаще всего отмечали среднюю степень сопротивляемости (2–3 острых заболевания в год): 51,6% и 47,2% детей в группах соответственно,  $p>0,05$ . Высокая степень сопротивляемости была выявлена в 16,1% и 24,5% случаев в группах соответственно,  $p>0,05$ . Сниженная сопротивляемость – у 16 (25,8%) детей из 1-ой группы и 15 (28,3%) – из 2-ой,  $p>0,05$ . Только 4 (6,5%) ребенка 1-ой группы имели резко сниженную сопротивляемость.

На основании полученных результатов комплексного обследования детей, распределение детей по группам здоровья было следующим:

I группу здоровья (здоровые дети) имели 2 (3,2%) ребенка 1-ой группы и 3 (5,7%) ребенка 2-ой группы ( $p>0,05$ );

II группу здоровья (отсутствуют хронические заболевания, но наличие некоторые функциональные и морфофункциональные нарушения) имели более половины обследованных детей, но статистически значимо чаще дети из 2-ой группы: 35 (56,5%) детей 1-ой группы и 41 (77,3%) ребенок 2-ой группы ( $p=0,019$ );

III группа здоровья (дети, страдающие хроническими заболеваниями в стадии клинической ремиссии) статистически значимо чаще была выявлена у обследуемых 1 группы (13 (20,9%) и 4 (7,5%) в 1-ой и 2-ой группах соответственно,  $p=0,045$ );

IV группа здоровья (дети, страдающие хроническими заболеваниями в активной стадии и стадии нестойкой ремиссии с частыми обострениями) была отмечена у 5 (8,1%) детей 1-ой группы и у 2 детей (3,8%) – из 2-ой ( $p>0,05$ );

V группа здоровья (тяжелые хронические заболевания (состояния) с редкими клиническими ремиссиями) имела место у 8 (12,9%) детей 1-ой группы и у 3 (5,7%) детей 2-ой группы ( $p>0,05$ ). Однако наличие V группы здоровья не всегда говорит о тяжелом состоянии ребенка. Поскольку эта группа здоровья может быть установлена ребенку, который имеет нормальное физическое развитие, I или II группу НПР, высокую или среднюю степень сопротивляемости организма, но

наличие того или иного заболевания в соответствии с алгоритмом определения групп здоровья у детей в возрасте от 3 до 17 лет включительно (по результатам профилактических медицинских осмотров), утвержденных приказом Минздрава России от 30.12.2003 г. № 621, соответствует V группе здоровья. В нашем исследовании таких детей было двое. Эти дети имели инвалидность по тугоухости. Данный диагноз был выставлен своевременно, вовремя установлен кохлеарный имплант. Дети социально адаптированы, имеют нормальное физическое развитие, II группу НПР, однако наличие тугоухости с кохлеарным имплантом предполагает V группу здоровья.

Наблюдение за детьми, включенными в исследование, с рождения до возраста 3-х лет, показало, что как в группе с врожденной пневмонией, так и без таковой был неблагоприятный исход – летальный исход и инвалидность со стойким нарушением здоровья. Проведенные нами исследования показали, что факторами риска развития неблагоприятного исхода является ряд анамнестических, клинических, биохимических и генетических параметров, среди которых проведено ранжирование (Таблица 53).

Безусловно, генетические и биохимические маркеры вносят большой вклад в развитие неблагоприятного исхода. Однако не во всех родовспомогательных учреждениях имеется возможность проведения таких исследований. Поэтому, мы разработали автоматизированную интеллектуальную программу прогнозирования наступления неблагоприятного исхода (летальный исход или формирование инвалидности со стойким нарушением здоровья) у глубоко недоношенных детей учитывая лишь анамнестические и клинические данные, включающие наличие/отсутствие врожденной пневмонии, срок гестации, наличие/отсутствие длительного безводного периода, оценка по шкале Апгар в конце 1 и 5 минуты жизни, оценка по шкале Сильверман, масса тела при рождении, длина, окружность головы и груди, наличие/отсутствие ЭНМТ, длительность ИВЛ в часах, наличие/отсутствие ГЗ ФАП.



Таблица 53 – Факторы риска развития неблагоприятного исхода у детей к 3-летнему возрасту

Фактор риска	Отношение шансов OR (95% ДИ)	Достоверность различий, p
Генотип <i>GSTM1</i> +/+ <i>GSTT1</i> +/+ <i>DRB1</i> *13 <i>DQA1</i> *0301 <i>DQB1</i> *0602	20,95 (2,49–175,6)	0,041
Генотип <i>GSTM1</i> - <i>GSTT1</i> + <i>DRB1</i> *11 <i>DQA1</i> *0501 <i>DQB1</i> *0301	17 (3,06–94,5)	0,028
Генотип <i>GSTM1</i> - <i>GSTT1</i> + <i>DRB1</i> *15 <i>DQA1</i> * 0102 <i>DQB1</i> *0602	17 (3,06–94,5)	0,028
Содержание КЦ LL 37 в фарингеальном аспирате менее 10,2 нг/мл на 1 д.ж.	13,5 (1,9–96,5)	0,02
Аллель <i>DQA1</i> *0401	8,24 (1,5–44,7)	0,014
ГЗ ФАП	4,39 (1,27–15,12)	0,01
Дыхательная недостаточность III ст	4,26 (2,06–8,83)	0,000
Длительный безводный период	3,45 (1,43–8,29)	0,004
ЭНМТ	3,24 (1,54–6,82)	0,001
Врожденная пневмония	3,11 (1,44–6,72)	0,003
Тяжелая асфиксия при рождении	2,44 (1,2–4,96)	0,01

На разработанную компьютерную программу «Прогнозирование развития неблагоприятного исхода у глубоконедоношенных новорожденных (нейронная сеть)» получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021663180 от 12.08.2021. Программа предназначена для использования в стационаре врачами ОРИТН, неонатологами отделения выхаживания недоношенных детей, на амбулаторном этапе поликлиническими педиатрами, а также педиатрами, осуществляющими катamnестическое наблюдение для определения вероятности развития неблагоприятного исхода у глубоко недоношенных детей с целью проведения профилактических мероприятий и дополнительного обследования этой категории пациентов, а также разработки вариантов персонализированного лечения (например, коррекция антимикробной терапии, включение в комплекс лечения гормональных и иммунных препаратов).

Таким образом, настоящее исследование выявило новые биохимические и молекулярно – генетические механизмы развития врожденной пневмонии и ее исходов у глубоко недоношенных детей и на основании полученных данных, а также уточненных клинических факторов риска, позволило разработать алгоритм прогнозирования и диагностики врожденной пневмонии и ее исходов у глубоко недоношенных детей и автоматизированную программу прогнозирования неблагоприятного исхода перинатальной патологии у данной категории пациентов.

## ВЫВОДЫ

1. Дети с врожденной пневмонией чаще, в отличие от детей без врожденной пневмонии, рождаются на более ранних сроках гестации, в состоянии тяжелой асфиксии, имеют более низкую оценку по шкале Апгар к концу 1-й и 5-й минуты жизни, требуют повторного введения сурфактанта. У них чаще диагностируют церебральную ишемию 3-й степени и внутрижелудочковые кровоизлияния (в том числе ВЖК II степени, САК), тяжелую анемию, гемодинамически значимый функционирующий артериальный проток, ретинопатию недоношенных, бронхолегочную дисплазию и летальный исход.

При патоморфологическом исследовании плацент ведущими изменениями в обеих группах были острое и хроническое воспаление в сочетании с нарушениями маточно-плацентарного кровообращения на фоне слабо выраженных компенсаторных процессов в ней.

2. К трехлетнему возрасту 59,7% детей с врожденной пневмонией и 83,0% детей без врожденной пневмонии являются практически здоровыми. Дети, перенесшие врожденную пневмонию, в возрасте 3 лет чаще, чем дети без врожденной пневмонии, имеют III группу здоровья и более высокие показатели инвалидности.

3. При врожденной пневмонии в раннем неонатальном периоде имеет место более высокая концентрация сурфактантного протеина D и белка клеток Клара в бронхоальвеолярной лаважной жидкости, по сравнению с детьми без врожденной пневмонии. У детей с врожденной пневмонией низкая концентрация этих протеинов как в БАЛЖ, так и в сыворотке крови сопряжена с развитием у них БЛД. У пациентов, перенесших врожденную пневмонию, в возрасте 1 месяц отмечается значительное снижение концентрации пневмопротеинов в сыворотке крови.

Низкое содержание сурфактантного протеина D и белка клеток Клара в БАЛЖ у глубоко недоношенных новорожденных с врожденной пневмонией

имеет прогностическое значение и ассоциировано с формированием бронхолегочной дисплазии.

4. У глубоко недоношенных детей с врожденной пневмонией в раннем неонатальном периоде содержание кателицидина LL37 и секреторной фосфолипазы A2 в фарингеальном аспирате выше, чем у детей без врожденной пневмонии. В динамике неонатального периода отмечается увеличение содержания кателицидина LL37 в сыворотке крови в обеих группах.

Низкая концентрация кателицидина LL 37 в фарингеальном аспирате в 13,5 раз увеличивает риск летального исхода от врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных

5. Молекулярно-генетическими факторами риска развития врожденной пневмонии являются: присутствие в генотипе аллелей *DRB1\*04* и *DRB1\*15*, а также генотипа *DQB1\*0302/0602*.

Наличие в генотипе аллелей *DRB1\*13*, *DQA1\*0103*, *DQB1\*0501*, генотипов *DRB1\*13/13*; *DQA1\*0101/0103*; *DQB1\*0501/0602*; *GSTM1* +/+ *GSTT1* +/+ *DRB1\*13* *DQA1\*0501* *DQB1\*0301* имеет протективный характер в плане развития данной патологии.

Наличие в генотипе ребенка вариантов генов *GSTM1* 0/0 и *GSTT1* 0/0, а также их сочетанное присутствие является маркером предрасположенности к формированию БЛД в исходе дыхательных нарушений у глубоко недоношенных новорожденных.

6. Наличие аллеля *DQA1\*0301* и генотипа *GSTM1*+/+ *GSTT1*+/+ *DRB1\*13* *DQA1\*0301* *DQB1\*0602* увеличивает риск летального исхода и инвалидности со стойким нарушением здоровья у обследованных детей. Наличие аллеля *DQA1\*0401* и генотипов *GSTM1* - *GSTT1* +/+ *DRB1\*11* *DQA1\*0501* *DQB1\*0301* и *GSTM1* - *GSTT1*+/+ *DRB1\*15* *DQA1\*0102* *DQB1\*0602* ассоциировано с наступлением летального исхода у глубоко недоношенных детей.

7. На основании установленных факторов риска (врожденная пневмония, длительный безводный период, оценка по шкале Апгар в конце 1-ой и 5-ой минуты жизни, оценка по шкале Сильверман, ЭНМТ, длительность ИВЛ в часах,

ГЗ ФАП), а также гестационного возраста, массы и длины тела при рождении с использованием технологий искусственного интеллекта разработана прогностическая модель (автоматизированная программа) летального исхода и инвалидности со стойким нарушением здоровья у недоношенных новорожденных гестационным возрастом менее 32 недель, массой тела при рождении менее 1500 г., с дыхательными нарушениями при рождении.

8. Разработан алгоритм диагностики врожденной пневмонии и прогнозирования исходов перинатальной патологии у глубоко недоношенных новорожденных, включающий определение содержания сурфактантного протеина D и белка клеток Клара в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и сыворотке крови; кателицидина LL 37 и секреторной фосфолипазы A2 в фарингеальном аспирате и сыворотке крови, исследование полиморфизма генов системы детоксикации и HLA II класса и автоматизированную программу.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В качестве дополнительного критерия диагностики врожденной пневмонии у детей, родившихся сроком гестации менее 32 недель и массой тела при рождении менее 1500г. целесообразно проводить оценку концентрации сурфактантного протеина D и белка клеток Клара в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и сыворотке крови, а также кателицидина LL 37 и секреторной фосфолипазы A2 в фарингеальном аспирате и сыворотке крови в раннем неонатальном периоде.
2. С целью прогнозирования развития бронхолегочной дисплазии у новорожденных, родившихся сроком гестации менее 32 недель и массой тела при рождении менее 1500г рекомендуется исследовать концентрацию белка клеток Клара на 3-й день жизни в бронхоальвеолярной лаважной жидкости. При концентрации этого белка менее 53 нг/мл прогнозируют возникновение бронхолегочной дисплазии.
3. С целью прогнозирования исходов врожденной пневмонии у новорожденных, родившихся сроком гестации менее 32 недель и массой тела при рождении менее 1500г, рекомендуется определение в 1-е сутки жизни в фарингеальном аспирате концентрации кателицидина LL 37. При его концентрации менее 10,2 нг/мл прогнозируют летальный исход.
4. Целесообразно новорожденным, родившимся гестационным возрастом менее 32 недель и массой тела при рождении менее 1500г, проводить молекулярно-генетическое тестирование генов системы детоксикации *GSTM1* и *GSTT1* и главного комплекса гистосовместимости HLA II класса (*DRB1*, *DQA1* и *DQB1*) для определения особенностей генотипа в указанных локусах с целью персонификации тактики лечебно-диагностических мероприятий и предупреждения неблагоприятных исходов заболеваний.
5. Разработанную автоматизированную программу рекомендуется использовать для прогнозирования неблагоприятных исходов у глубоко недоношенных детей с респираторной патологией с целью разработки схем персонифицированного лечения.

6. Разработанный алгоритм диагностики врожденной пневмонии и прогнозирования исходов перинатальной патологии у глубоко недоношенных детей рекомендуется к применению в отделениях реанимации и интенсивной терапии новорожденных.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БАЛЖ – бронхоальвеолярная лаважная жидкость

БКК – белок клеток Клара

БЛД – бронхолегочная дисплазия

ВЖК – внутрижелудочковые кровоизлияния

ВП – врожденная пневмония

ВЧОВЛ – высокочастотная осцилляторная вентиляция легких

ГВ – гестационный возраст

ГЗФАП – гемодинамически значимый функционирующий артериальный проток

ДИ – доверительный интервал

ДН – дыхательная недостаточность

ДЦП – детский церебральный паралич

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИФА – иммуноферментный анализ

КЦ LL37 – кателицидин LL37

НПР – нервно-психическое развитие

НЭК – некротизирующий энтероколит

ОАП – открытый артериальный проток

ОНМТ – очень низкая масса тела

ОПННД – отделение патологии новорожденных и недоношенных детей

ОРИТН – отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных

ОШ – отношение шансов

ПВЛ – перивентрикулярная лейкомаляция

ПП ЦНС – перинатальное поражение центральной нервной системы

ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты

РДС – респираторный дистресс-синдром

РН – ретинопатия недоношенных

САК – субарахноидальное кровоизлияние

СП-D – сурфактантный протеин D



ФАП – функционирующий артериальный проток

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ЦИ – церебральная ишемия

ЦНС – центральная нервная система

ЭНМТ – экстремально низкая масса тела

ЭТТ – эндотрахеальная трубка

$\text{FiO}_2$  – фракционная доля кислорода

INSURE – intubation/surfactant/extubation – способ введения сурфактанта

HLA (Human Leukocyte Antigen) – главный комплекс гистосовместимости

LISA – less invasive surfactant administration – мало инвазивное введение сурфактанта

nCPAP – респираторная поддержка с помощью назального CPAP (постоянного положительного давления в дыхательных путях)

OR (ODDS RATIO) – отношение шансов

r – коэффициент корреляции

ROC-анализ (receiver operator characteristic)

$\text{SpO}_2$  – сатурация кислорода

sPLA2 – секреторная фосфолипаза A2 (человека, тип IIА).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абсолютная нейтропения и развитие инфекций в раннем неонатальном периоде у недоношенных новорожденных : одномоментное исследование / В. Е. Мухин, Л. Л. Панкратьева, О. И. Милева [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2020. – Т. 19, № 5. – С. 352–358.
2. Аверьянов, А. В. Нейтрофильная эластаза и болезни органов дыхания / А. В. Аверьянов, А. Э. Поливанова // Пульмонология. – 2006. – № 5. – С. 74–79.
3. Азимова, В. Т. Эндогенные антимикробные пептиды человека / В. Т. Азимова, Н. И. Потатуркина-Нестерова, А. С. Нестеров // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1–1. – С. 1337.
4. Акушерство : национальное руководство / под ред. Г. М. Савельевой, Г. Т. Сухих, В. Н. Серова, В. Е. Радзинского. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 1088 с.
5. Александрович, Ю. С. Интенсивная терапия новорожденных / Ю. С. Александрович, К. В. Пшениснов. – Санкт-Петербург : ООО «Издательство Н-Л», 2013. – 672 с.
6. Андреева, Е. Е. Особенности распределение генов HLA класса II у больных полинозами : специальность 14.01.04 «Внутренние болезни» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Андреева Елена Евгеньевна; Астраханская государственная медицинская академия. – Астрахань, 2011. – 155 с.
7. Анемии у недоношенных детей / Н. И. Зернова, Е. М. Плешкова, Л. И. Туркова, Т. И. Кузнецова // Смоленский медицинский альманах. – 2016. – № 4. – С. 143–148.
8. Баранов, А. А. Смертность детского населения в России : состояние, проблемы и задачи профилактики / А. А. Баранов, В. Ю. Альбицкий, Л. С. Намазова-Баранова // Вопросы современной педиатрии. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 96–106.

9. Беяева, И. А. Дисфункции пищеварения у недоношенных детей / И. А. Беяева, Е. П. Бомбардирова, Э. О. Тарзян // Вопросы современной педиатрии. – 2012. – Т. 11, № 6. – С. 75–79.
10. Беяков, Е. С. Human leukocyte antigen, основы и перспективы / Е. С. Беяков, Е. Ю. Мельничук // Молодой ученый. – 2019. – № 5(243). – С. 41–42.
11. Беяшова, М. А. Молекулярно-генетические механизмы развития бронхолегочной дисплазии / М. А. Беяшова, Д. Ю. Овсянников, Л. М. Огородова // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2015. – № 3. – С. 50–68.
12. Боркина, А. Н. Роль клеток Клара в гистофизиологии бронхиолярного эпителия и их значение в развитии легочной патологии / А. Н. Боркина // Пульмонология. – 2007. – № 5. – С. 95–99.
13. Бронхолегочная дисплазия / И. К. Ашерова, О. А. Бабак, А. В. Богданова [и др.]; под ред. Д. Ю. Овсянникова, Н. А. Геппе, А. Б. Малахова, Д. Н. Дегтярева. – Москва, 2020. – 176 с.
14. Брыляева, Е. В. Иммуногенетические исследования хронической обструктивной болезни легких / Е. В. Брыляева, Н. Н. Крюков, А. В. Жестков // Практическая медицина. – 2011. – № 3. – С. 55–57.
15. Васильев, А. Ю. Основы ультразвуковой диагностики в педиатрии и детской хирургии : учебно-методическое пособие для врачей ультразвуковой диагностики / А. Ю. Васильев, Е. Б. Ольхова. – Москва : ООО «Фирма СТРОМ», 2019. – 340 с.
16. Ведение новорожденных с респираторным дистресс-синдромом : клинические рекомендации / А. П. Аверин, А. Г. Антонов, Е. Н. Байбарина [и др.] под ред. Н. Н. Володина. – Москва, 2016. – 48 с. [Электронный ресурс]. URL:<http://www.raspm.ru/files/0236-rds-br2.pdf>. (дата обращения: 28.10.2021).
17. Виноградова, Е. В. Состояние здоровья детей с экстремально низкой массой тела при рождении в отдаленные периоды жизни / Е. В. Виноградова, М. В. Краснов // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6, № 1. – С. 20–25.

18. Влияние полиморфизма генов NOS3, AGTR1, TLR9, DRD4 на тяжесть течения врожденной пневмонии у новорожденных детей / О. В. Ионов, А. Е. Донников, М. Б. Безлепкина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2019. – № 5. – С. 102–111.
19. Волянюк, Е. В. Врожденная пневмония у недоношенных новорожденных : особенности этиологии, диагностики и лечения / Е. В. Волянюк, А. И. Сафина // Практическая медицина. – 2011. – № 5(53). – С. 55–59.
20. Врожденная пневмония (клинические рекомендации) / А. Г. Антонов, Е. Н. Байбарина, Е. Н. Балашова [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2017. – № 4. – С. 133–148.
21. Врожденная пневмония : клинические рекомендации / А. Г. Антонов, Е. Н. Байбарина, Е. Н. Балашова [и др.] – Москва, 2017. – 40 с. [Электронный ресурс]. URL:[https://neonatology.pro/wp-content/uploads/2019/12/protokol\\_congenital\\_pneumonia\\_2017.pdf](https://neonatology.pro/wp-content/uploads/2019/12/protokol_congenital_pneumonia_2017.pdf). (дата обращения: 28.01.2022).
22. Врожденная пневмония как причина перинатальной смертности в Российской Федерации / А. И. Щеголев, У. Н. Туманова, М. П. Шувалова, О. Г. Фролова // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2016. – № 2. – С. 61–66.
23. Газазян, М. Г. Факторы риска реализации внутриутробной инфекции у новорожденного / М. Г. Газазян, Е. Д. Стребкова // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т. 18, № 12. – С. 83–86.
24. Генетическая детерминация формирования бронхолегочной дисплазии : за и против / В. К. Пожарищенская, И. В. Давыдова, К. В. Савостьянов [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2017. – Т. 14, № 1. – С. 24–32.
25. Генетические маркеры дыхательных расстройств у новорожденных / Р. З. Богданова, А. И. Фатыхова, К. В. Данилко [и др.] // Вопросы практической педиатрии. – 2008. – Т. 3, № 6. – С. 12–16.
26. Генетические маркеры предрасположенности к развитию дыхательных нарушений у новорожденных / Л. И. Хамидуллина, К. В. Данилко, Т. В. Викторова [и др.] // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2012. – № 5. – С. 26–30.

27. Генетические основы бронхиальной астмы / А. Ю. Асанов, Л. С. Намазова, В. Г. Пинелис [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2008. – Т. 5, № 4. – С. 31–37.
28. Генетические полиморфизмы у детей, ассоциированные с развитием врожденных инфекций / И. В. Никитина, А. Е. Донников, О. А. Круг-Йенсен [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2019. – № 11. – С. 175–185.
29. Гены детоксикации ксенобиотиков и их роль в развитии пневмонии / Л. Е. Сальникова, Т. В. Смелая, В. В. Мороз [и др.] // Общая реаниматология. – 2008. – № 4. – С. 6–15.
30. Гладков, С. А. Беременность и грипп: патоморфологические проявления инфекции, вызванной вирусом А/Н1 N1 / С. А. Гладков // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. – Т. LXIII, Вып. 3. – С. 26–35.
31. Глуховец, Б. И. Основные причины смерти новорожденных с экстремально низкой массой тела / Б. И. Глуховец, Н. А. Белоусова, В. Г. Попов // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2004. – Т. 49, № 5. – С. 61.
32. Дворяковский, И. В. Возможности ультразвуковой диагностики при патологии легких у новорожденных детей / И. В. Дворяковский, Н. Д. Одинаева, Т. В. Потехина // Российский педиатрический журнал. – 2011. – № 3. – С. 16–19.
33. Диагностическая значимость признаков пневмонии у новорожденных детей / В. В. Зубков, Е. Н. Байбарина, И. И. Рюмина, Д. Н. Дегтярев // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 7. – С. 68–73.
34. Доказательная пульмонология новорожденных и грудных детей : учебное пособие / Д. Ю. Овсянников, А. М. Болибок, И. В. Кршеминская, Е. А. Дегтярева; под ред. Д. Ю. Овсянникова. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : РУДН, 2017. – 168 с.
35. Журавлева, Л. Н. Роль цитокинов в патогенезе пневмоний у недоношенных новорожденных детей / Л. Н. Журавлева, В. И. Новикова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2018. – № 3. – С. 33–38.
36. Заболеваемость недоношенных детей, родившихся с очень низкой и экстремально низкой массой тела, к концу первого года жизни / О. М. Филькина,

- Н. В. Долотова, О. Г. Андреюк, Е. А. Воробьева // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2010. – Т. 15, № 3. – С. 49–53.
37. Здоровье детей, перенесших искусственную вентиляцию легких в периоде новорожденности / Л. А. Уфимцева, Е. В. Аронскинд, Э. Г. Курова [и др.] // Российский педиатрический журнал. – 2003. – № 6. – С. 13–15.
38. Иваненкова, Ю. А. Особенности ретикулоцитарных показателей у глубоконедоношенных детей в динамике неонатального периода / Ю. А. Иваненкова // Педиатрическая фармакология. – 2019. – Т. 16, № 1. – С. 45–46.
39. Иванов, Д. О. Исследование моторного развития недоношенных детей в условиях амбулаторно-поликлинической службы / Д. О. Иванов, Г. А. Суслова, И. Н. Суренкова // Педиатр. – 2021. – Т. 12, № 1. – С. 43–50.
40. Иванова, А. А. Молекулярно-генетические аспекты внезапной сердечной смерти : обзор литературы / А. А. Иванова, В. Н. Максимов // Бюллетень сибирской медицины. – 2018. – Т. 17, № 4. – С. 209–220.
41. Изучение полиморфизма генов системы детоксикации и HLA II класса у глубоконедоношенных детей с неблагоприятным исходом / // Н. А. Шилова, И. Н. Фетисова, Н. В. Харламова [и др.] // Геномная медицина в пренатальной диагностике, генетическом паспорте и в генной терапии: сборник научных трудов / под ред. В. С. Баранова, А. С. Глотова. – Новосибирск : Академиздат, 2020. – С. 150–153.
42. Исследование лактоферрина и ФНО в околоплодных водах и сыворотке крови, как возможность факторов риска развития хориоамнионита у рожениц высокого инфекционного риска / Ю. И. Тирская, С. В. Баринов, Т. И. Долгих, Е. М. Овчинникова // Мать и дитя в Кузбассе. – 2012. – № 4(51). – С. 47–51.
43. Казакова, К. А. Бронхолегочная дисплазия : современный взгляд на течение и исходы / К. А. Казакова // Педиатрическая фармакология. – 2016. – Т. 13, № 4. – С. 367–372.
44. Каракушикова, А. С. Особенности иммунного статуса недоношенных детей с перинатальной патологией в раннем неонатальном периоде / А. С. Каракушикова, К. В. Рахимова, Г. М. Абдуллаева // Педиатрия. – 2012. – Т. 91, № 1. – С. 20–25.

45. Клеточно-молекулярные факторы врожденной защиты и их роль в патогенезе пневмонии / Н. Г. Плехова, Н. М. Кодрашова, Б. И. Гельцер, В. Н. Котельников // Иммунология. – 2017. – Т. 38, № 2. – С. 124–129.
46. Клинико-диагностическая характеристика пневмонии у новорожденных при герпетических инфекциях / Н. Н. Кудашов, В. В. Зубков, В. Г. Помелова, Л. В. Ванько // Педиатрия. – 2001. – № 3. – С. 8–13.
47. Клиническая настороженность к завозной малярии : прививные случаи и смертельные исходы в России / А. М. Баранова, В. П. Сергиев, Т. М. Гузеева, А. К. Токмалаев // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2018. – Т. 7, № 4. – С. 97–101.
48. Клинические факторы риска развития функционирующего гемодинамически значимого артериального протока у недоношенных новорожденных / Ю. А. Фисюк, Н. В. Харламова, Т. В. Чаша [и др.] // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2020. – Т. 25, № 1. – С. 20–24.
49. Клиническое значение исследования пневмопротеинов у глубоконедоношенных детей / Н. А. Шилова, Т. В. Чаша, И. Г. Попова, А. Г. Хорошилова // Российский педиатрический журнал. – 2013. – № 1. – С. 28–31.
50. Колобов, А. В. Инфекционные поражения последа как причина невынашивания беременности / А. В. Колобов, А. И. Меркулова, В. А. Цинзерлинг // Журнал инфектологии. – 2015. – № 1. – С. 47–52.
51. Колонизация мочевых путей беременных стрептококками группы В и перинатальные исходы / К. А. Оганян, С. Л. Зациорская, О. Н. Аржанова, А. М. Савичева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2006. – Т. LV, Вып. 1. – С. 47–52.
52. Комплексный подход катamnестического наблюдения детей до 3 лет, родившихся с очень низкой и экстремально низкой массой тела / А. К. Миронова, М. И. Пыков, К. В. Ватолин, И. М. Османов // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 122–127.
53. Коненков, В. И. Медицинская и экологическая иммуногенетика / В. И. Коненков. – Новосибирск, 1999. – 250 с.

54. Кошелева, Н. Г. Исходы беременности, иммуноморфологическое состояние плаценты после ОРВИ, перенесенного беременной, профилактика, лечение / Н. Г. Кошелева, Л. Б. Зубжицкая // Журнал акушерства и женских болезней. – 2005. – Т. LIV, Вып. 3. – С. 12–18.
55. Кузьмин, В. Н. Проблема внутриутробной инфекции в современном акушерстве / В. Н. Кузьмин, Л. В. Адамян // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2017. – № 3. – С. 32–36.
56. Кушнарева, М. В. Этиология пневмонии новорожденных, осложненной бронхолегочной дисплазией / М. В. Кушнарева, Е. С. Кешишян, Э. Д. Балашова // J Neonatal Perinatal Med. – 2019. – Т. 12, № 4. – С. 429–436.
57. Ланге, С. Лучевая диагностика заболеваний органов грудной клетки : руководство, атлас / С. Ланге, Д. Уолш; пер. с англ. под ред. С. К. Тернового, А. И. Шехтера. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 432 с.
58. Маркеры системы HLA у больных респираторными инфекциями у рабочих нефтегазовых промыслов севера Томской области / Н. Н. Ильинских, Е. Н. Ильинских, Е. В. Ямкова, И. Н. Ильинских // Актуальные проблемы современной науки : сборник научных статей с материалами XI Телеконференции с международным участием. – Томск, 2013. – С. 67–68.
59. Медицинская помощь детям, родившимся на сроке гестации 27 недель и менее / Н. В. Харламова, Т. В. Чаша, А. И. Малышкина [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2015. – № 4. – С. 31–32.
60. Младенческая смертность в Российской Федерации и факторы, влияющие на ее динамику / Д. О. Иванов, Ю. С. Александрович, В. И. Орел, Д. В. Прометной // Педиатр. – 2017. – Т. 8, № 3. – С. 5–14.
61. Младенческая смертность вне лечебных учреждений и пути ее снижения / Д. С. Крючко, И. И. Рюмина, В. В. Челышева [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2018. – Т. 17, № 6. – С. 434–440.
62. Молекулярно-генетические предикторы врожденной инфекции при задержке роста плода / Н. А. Ломова, М. Б. Ганичкина, А. А. Хачатурян [и др.] // Медицинский совет. – 2016. – № 17. – С. 156–159.



63. Мостовой, А. В. Искусственная вентиляция легких у новорожденных. Физиологические особенности газообмена и механики дыхания как основа для управления параметрами вентиляции / А. В. Мостовой, А. Л. Карпова // Детские болезни сердца и сосудов. – 2016. – Т. 13, № 2. – С. 79–87.
64. Моторное и психопредречевое развитие глубоконедоношенных детей, перенесших врожденную пневмонию и ранний неонатальный сепсис, в первые 12 мес скорректированного возраста / А. В. Дегтярева, О. В. Михайлова, Д. Ю. Амирханова [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2019. – Т. 7, № 4. – С. 18–26.
65. Нарушения нервно-психического развития у недоношенных детей с низкой и экстремально низкой массой тела при рождении / Н. Н. Заваденко, М. С. Ефимов, А. Н. Заваденко [и др.] // Педиатрия. – 2015. – Т. 94, № 5. – С. 142–148.
66. Наследственные болезни : национальное руководство / под ред. Н. П. Бочкова, Е. К. Гинтера, В. П. Пузырева. – Москва : ГЕОТАР-Медиа, 2012. – 936 с.
67. Неврология недоношенных детей / А.Б.Пальчик, А.Е.Понятишин, Л.А.Федорова. – 5-е изд., доп. и перераб. – М. : МЕДпресс-информ, 2021. – 408 с. : ил.
68. Неонатология : национальное руководство / гл. ред. Н. Н. Володин; науч. ред. Е. Н. Байбарина, Г. Н. Буслаева, Д. Н. Дегтярев. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 848 с.
69. Никитина, И. В. Современные подходы к диагностике, терапии и профилактике инвазивных микозов у новорожденных / И. В. Никитина, О. В. Ионов, Н. А. Приходько // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2014. – № 4. – С. 64–72.
70. О Порядке проведения профилактических медицинских осмотров несовершеннолетних : Приказ Министерства здравоохранения РФ от 10 августа 2017 г. № 514н (Приложение № 1. Порядок проведения профилактических медицинских осмотров несовершеннолетних). - URL: <https://base.garant.ru/71748018/#friends>

71. Овсянников, Д. Ю. Бронхолегочная дисплазия : учебно-методическое пособие по изучению курса «Детские болезни» / Д. Ю. Овсянников. – Москва : РУДН, 2009. – 63 с.
72. Овсянников, Д. Ю. Клиническая патофизиология органов дыхания недоношенных детей / Д. Ю. Овсянников, Д. А. Кравчук, Д. Ю. Николаева // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2018. – Т. 6, № 3. – С. 74–98.
73. Организация катамнестического наблюдения детей первого года жизни, рожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела, в Ивановской области / А. И. Малышкина, О. М. Филькина, О. Н. Песикин, Е. А. Матвеева // Перинатальная медицина от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству : тезисы докладов общероссийской конференции с международным участием. – Санкт-Петербург, 2014. – С. 20.
74. Орлова, Г. П. Маркеры активности экзогенных интерстициальных заболеваний легких / Г. П. Орлова, Е. А. Суркова, С. В. Лапин // Пульмонология. – 2016. – № 2. – С. 180–185.
75. Осипчук, Д. О. Проблема амниорексиса при недоношенной беременности : предрасполагающие факторы, перспективы прогнозирования хориоамнионита (научный обзор) / Д. О. Осипчук, Т. В. Слабинская // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2014. – № 1(47). – С. 79–84.
76. Особенности анамнеза матерей глубоконедоношенных новорожденных с дыхательными нарушениями инфекционной и неинфекционной этиологии / М. А. Ананьева, Н. А. Шилова, Т. В. Чаша [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2016. – Т. 16, № 5. – С. 71–75.
77. Особенности продукции цитокинов субпопуляционного состава лимфоцитов и функционального состояния нейтрофилов при неонатальных пневмониях и способы иммунокоррекции / М. В. Дегтярева, Н. Н. Володин, К. К. Бахтияян [и др.] // Медицинская иммунология. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 69–76.
78. Особенности цитокинового статуса у недоношенных новорожденных с заболеваниями легких инфекционного и неинфекционного генеза / И. В.

Никитина, А. С. Жукова, Л. В. Ванько [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2018. – Т. 6, № 4. – С. 16–23.

79. Открытый артериальный проток у недоношенных детей / А. А. Буров, Д. Н. Дегтярев, О. В. Ионов [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2016. – № 4. – С. 120–128.

80. Панов, П. В. Перинатальные и иммуногенетические факторы риска бронхолегочной дисплазии : специальность 14.01.08 «Педиатрия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Панов Павел Владимирович; Российская медицинская академия последиplomного образования МЗ РФ. – Уфа, 2014. – 22 с.

81. Патент № 2439569 Российская Федерация, МПК G01N 33/53. Способ прогнозирования бронхолегочной дисплазии у детей с врожденной пневмонией – № 2010146006/15 : заявлено 12.11.2010, опубликовано 10.01.2012 / Шилова Н. А., Чаша Т. В., Хорошилова А. Г., Кузьменко Г. Н., Попова И. Г., Филиппов С. Э.; заявитель федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России. – 8 с.

82. Патент № 2543343 Российская Федерация, МПК G01N 33/68. Способ прогнозирования исходов врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных – № 2013146411/15, заявл. 18.10.2013, опубл. 27.02.2015 / Шилова Н. А., Чаша Т. В., Родина М. А., Кузьменко Г. Н., Попова И.Г.; заявитель федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России. - 7 с.

83. Первичная и реанимационная помощь новорожденным детям : методическое письмо / под ред. Н. Н. Володина, Е. Н. Байбариной, Г. Т. Сухих. – М., 2010. – 44 с.

84. Перепелица, С. А. Этиологические и патогенетические перинатальные факторы развития внутриутробных инфекций у новорожденных (обзор) / С. А. Перепелица // Общая реаниматология. – 2018. – Т. 14, № 3. – С. 54–67.

85. Перечень маркеров генного полиморфизма, отвечающих за особенности мутагенной активности техногенных химических факторов : методические рекомендации. – Москва : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013. – 24 с.
86. Полиморфизм генов белков сурфактанта В и D как фактор предрасположенности к развитию дыхательных нарушений у новорожденных / Л. И. Хамидуллина, К. В. Данилко, Р. М. Файзуллина, Т. В. Викторова // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2010. – Т. 89, № 1. – С. 51–55.
87. Полиморфизм генов иммунного ответа и его роль в противoinфекционной защите / Р. М. Хаитов, Л. П. Алексеев, М. Н. Болдырева, Л. В. Сароянц // Иммунология. – 2013. – Т. 34, № 3. – С. 132–144.
88. Полиморфизм генов системы HLA II класса у недоношенных новорожденных с бронхолегочной дисплазией / И. Н. Фетисова, Т. В. Чаша, С. С. Межинский [и др.] // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2017. – Т. 22, № 3. – С. 13–18.
89. Полиморфизм генов системы детоксикации и главного комплекса гистосовместимости HLA II класса у глубоконедоношенных детей с врожденной пневмонией / Н. А. Шилова, И. Н. Фетисова, С. С. Межинский [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2020. – Т. 65, № 5. – С. 47–52.
90. Полиморфизм генов системы детоксикации ксенобиотиков, его роль в биотрансформации лекарственных препаратов / А. Г. Мусин, А. В. Хазиева, А. Э. Нигматуллина [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – Т. 9, № 2. – С. 211–216.
91. Полиморфизм генов системы детоксикации у глубоко недоношенных детей с бронхолегочной дисплазией / С. С. Межинский, Н. А. Шилова, Т. В. Чаша [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2018. – Т. 63, № 1. – С. 658–660.
92. Полиморфизм генов цитокинов у детей с дыхательными расстройствами / К. В. Данилко, Р. З. Богданова, А. И. Фатыхова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6. – С. 575. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=22928>. (дата обращения: 28.10.2021).

93. Последующее наблюдение недоношенных детей в городском центре катамнеза г. Казани / Е. В. Волянюк, А. И. Сафина, Г. М. Хузиева [и др.] // Практическая медицина. – 2016. – № 8(100). – С. 38–41.
94. Правила проведения патолого-анатомических исследований плаценты. Класс XV и XVI МКБ-10. Беременность, роды и послеродовый период. Отдельные состояния, возникающие в перинатальном периоде: клинические рекомендации / Г. А. Франк, Г. Б. Ковальский, Л. В. Кактурский [и др.]. – Москва, 2017. – 74 с.
95. Преждевременные роды : причины, патогенез, тактика / В. С. Белоусова, А. Н. Стрижаков, О. А. Свитич [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2020. – № 2. – С. 82–87.
96. Прогностическая значимость кателицидина у новорожденных / С. В. Минаев, А. Н. Обедин, Ю. Н. Болотов [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2012. – № 9(3). – С. 65–67.
97. Прогностические факторы риска формирования бронхолегочной дисплазии у недоношенных младенцев / П. В. Панов, Л. Д. Панова, Е. В. Ярукова, Э. Н. Ахмадеева // Практическая медицина. – 2016. – № 3(95). – С. 45–53.
98. Пролонгированное катамнестическое наблюдение за глубоконедоношенным ребенком с экстремально низкой массой тела при рождении / М. Г. Дегтярева, О. А. Ворон, О. А. Бабак [и др.] // Вопросы практической педиатрии. – 2006. – Т. 1, № 2. – С. 78–86.
99. Протективные факторы слизистой оболочки мочевого пузыря – ключ к новым подходам к терапии инфекции мочевых путей / И. Н. Захарова, И. М. Османов, А. Н. Касьянова [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 16–21.
100. Профилактические осмотры детского населения : учебное пособие для врачей / Т. В. Русова, Л. А. Жданова, Е. В. Селезнева [и др.]. – Иваново, 2006. – 224 с.
101. Пузырева, Н. И. Синдром дыхательных расстройств и сурфактант легких у новорожденных / Н. И. Пузырева, Р. М. Ларюшкина, Н. К. Рыжкова. – Москва : Медицина, 1987. – 144 с.

102. Пульмонология новорожденных : проблемы и решения / Д. Ю. Овсянников, Е. В. Бойцова, И. К. Ашерова [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2016. – № 4(14). – С. 39–54.
103. Райс, С. Х. Биологические эффекты токсических соединений : курс лекций / С. Х. Райс, Л. Ф. Гулеева. – Новосибирск, 2003. – 208 с.
104. Рентгенодиагностика заболеваний легких у новорожденных детей: монография / М. В. Дегтярева, А. В. Горбунов, А. П. Мазаев, А. В. Ерохина. – Москва : Логосфера, 2017. – 200 с.
105. Роль стрептококка группы В в развитии внутрибольничных инфекций / В. Н. Кузьмин, К. Н. Арсланян, Э. И. Харченко, Л. В. Адамян // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2016. – № 4. – С. 142–148.
106. Романова, Л. К. Цитофизиология секреторных бронхиоларных клеток легкого — источника «антимедиаторов» воспаления / Л. К. Романова, В. Л. Горячкина // Архив патологии. – 1999. – Т. 61, № 2. – С. 20–27.
107. Руденко, К. А. Специфичности человеческих лейкоцитарных антигенов второго класса (HLA II), ассоциированные с риском развития бронхиальной астмы в мировых популяциях / К. А. Руденко // Вестник Адыгейского государственного университета. Серия 4: Естественно-математические и технические науки. – 2012. – № 2. – С. 98–109.
108. Савенко, И. В. Возрастная динамика слуховой функции у детей, родившихся глубоко недоношенными / И. В. Савенко, Е. С. Гарбарук // Вестник оториноларингологии. – 2018. – Т. 83, № 5. – С. 11–16.
109. Самсонова, М. В. Диагностические возможности бронхоальвеолярного лаважа / М. В. Самсонова // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2006. – № 4. – С. 8–12.
110. Самсыгина, Г. А. Пневмонии у детей / Г. А. Самсыгина. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 176 с.
111. Сафина, А. И. Отдаленные психоневрологические исходы у глубоко недоношенных детей, перспективы диагностики и коррекции / А. И. Сафина, Е. В.

Волянюк // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2020. – Т 65, № 5. – С. 227–231.

112. Сахарова, Е. С. Особенности психомоторного развития глубоконедошенных детей / Е. С. Сахарова, Е. С. Кешишян, Г. А. Алямовская // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6, № 6. – С. 84–90.

113. Сахарова, Е. С. Анемия недоношенных детей : патогенез, диагностика, лечение и профилактика / Е. С. Сахарова, Е. С. Кешишян, Г. А. Алямовская // Медицинский совет. – 2015. – № 6. – С. 10–16.

114. Сахарова, Е. С. Динамика заболеваемости и исходов развития к 3 годам жизни у недоношенных детей, наблюдавшихся в специализированном стационаре / Е. С. Сахарова, Е. С. Кешишян, Г. А. Алямовская // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2015. – Т. 60, № 3. – С. 108–112.

115. Сахарова Е. С. «Недоношенность» как медико-социальная проблема здравоохранения. Часть 3. Система последующего наблюдения за недоношенными детьми / Е. С. Сахарова, Е. С. Кешишян, Г. А. Алямовская // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т. 62, № 5. – С. 43–48.

116. Семенова, А. Л. Современные взгляды на этиологию, диагностику и лечение хориоимнионита во II триместре беременности / А. Л. Семенова, Е. Н. Зарубина, С. В. Павлович // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2008. – № 2. – С. 63–66.

117. Сердобинцев, К. В. Система комплимента. Часть 1 / К. В. Сердобинцев // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2016. – Т. 45, № 2. – С. 41–48.

118. Система HLA : строение, функции, очевидная и возможная связь с аутоиммунными и атопическими заболеваниями / Е. В. Семин, Б. М. Блохин, К. Г. Каграманова, О. А. Майорова // Лечебное дело. – 2012. – № 1. – С. 4–9.

119. Смертность детей, родившихся на ранних сроках гестации, — непреодолимый барьер или резерв снижения младенческой смертности? / А. С. Симаходский, Ю. В. Горелик, К. Д. Горелик [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2020. – Т. 19, № 5. – С. 340–345.

120. Современный взгляд на функционирующий артериальный проток у недоношенных детей / Ж. А. Звягина, Е. Г. Цой, Л. Н. Игишева, Д. А. Тренина // *Мать и дитя в Кузбассе*. – 2018. – № 4(75). – С. 4–12.
121. Содержание антимикробного пептида кателицидина LL37 у глубоконедоношенных новорожденных с респираторным дистресс-синдромом и врожденной пневмонией / Н. А. Шилова, Т. В. Чаша, А. И. Малышкина [и др.] // *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. – 2014. – Т. 93, № 1. – С. 7–10.
122. Содержание белка клеток Клара у глубоконедоношенных новорожденных с дыхательными расстройствами / Н. А. Шилова, Т. В. Чаша, Г. Н. Кузьменко [и др.] // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2012. – № 7. – С. 15–17.
123. Содержание сурфактантного протеина Д в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и плазме крови у глубоконедоношенных новорожденных с дыхательными нарушениями / А. Г. Хорошилова, Н. А. Шилова, Т. В. Чаша [и др.] // *Врач-аспирант*. – 2010. – № 4.1(41). – С. 216–220.
124. Содержание сурфактантного протеина Д и белка клеток Клара в плазме крови у глубоконедоношенных новорожденных с дыхательными нарушениями / Н. А. Шилова, Т. В. Чаша, А. Г. Хорошилова [и др.] // *Таврический медико-биологический вестник*. – 2010. – Т. 13, № 4(52). – С. 222–224.
125. Тарбаева, Д. А. Полиморфизм генов HLA DRB1 у беременных с тяжелым течением гриппа A(H1N1)PDM2009 / Д. А. Тарбаева, Т. Е. Белокриницкая // *Дальневосточный медицинский журнал*. – 2015. – № 3. – С. 33–36.
126. Ткаченко, А. К. К понятию «Внутриутробное инфицирование и внутриутробная инфекция» / А. К. Ткаченко, Е. М. Марочкина, О. Н. Романова // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2017. – № 1. – С. 103–109.
127. Ультразвуковая диагностика заболеваний легких, предшествующих и сопутствующих формированию бронхолегочной дисплазии / И. Е. Колтунов, М. В. Дегтярева, А. П. Мазаев [и др.] // *Неонатология: новости, мнения, обучение*. – 2017. – № 4. – С. 96–103.



128. Фазлыева, М. Р. Клинико-диагностическое значение определения альвеомуцина у больных внебольничной пневмонией / М. Р. Фазлыева, Г. А. Мавзутова, О. З. Кузовкина // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 3. – С. 51–53.
129. Фетисова, И. Н. Наследственные факторы при различных формах нарушения репродуктивной функции специальность 03.00.15 «Генетика» : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Фетисова Ирина Николаевна. – Иваново, 2007. – 277 с.
130. Филиппов, В. П. Бронхоальвеолярный лаваж при диффузных поражениях легких / В. П. Филиппов. – Москва : Медицина, 2006. – 80 с.
131. Филькин, С. Ю. Суперсемейство фосфолипаз : структура, функции и применение в биотехнологии / С. Ю. Филькин, А. В. Липкин, А. Н. Федоров // Успехи биологической химии. – 2020. – Т. 60. – С. 369–410.
132. Хаитов, Р. М. Физиологическая роль главного комплекса гистосовместимости человека / Р. М. Хаитов, Л. П. Алексеев // Иммунология. – 2001. – Т. 22, № 3. – С. 4–12.
133. Чичахов, Д. А. Гидрокортизон и фуросемид в лечении бронхолегочной дисплазии у недоношенных новорожденных с низкой и экстремально низкой массой тела специальность 14.00.37 «Анестезиология и реаниматология» : автореферат диссертации на соискание степени кандидата медицинских наук / Чичахов Дьулустан Анатольевич. – Санкт-Петербург, 2005. – 24 с.
134. Шабалов, Н. П. Неонатология : учебное пособие. В 2 томах. Т. 1 / Н. П. Шабалов. – 6-е изд., испр. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 704 с.
135. Шилова, Н. А. Содержание сурфактантного протеина Д в бронхоальвеолярной жидкости у детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении / Н. А. Шилова, Т. В. Чаша, А. Г. Хорошилова // Российский иммунологический журнал. – 2012. – Т. 6(14), № 2(1). – С. 193–194.
136. Шилова, Н. А. Комплексная оценка состояния здоровья детей к 3-летнему возрасту, родившихся глубоконедоношенными / Н. А. Шилова, Т. В. Чаша, М. А.

Ананьева // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2020. – Т. 99, № 1. – С. 76–80.

137. Шилова, Н. А. Перинатальная патология и ее исходы к трехлетнему возрасту у глубоконедоношенных детей с дыхательными нарушениями / Н. А. Шилова, А. В. Андреев, Н. В. Харламова // Вопросы практической педиатрии. – 2021. – Т. 16, № 1. – С. 23–28.

138. Шилова, Н. А. Содержание секреторной фосфолипазы А2 при врожденной пневмонии у глубоконедоношенных детей / Н. А. Шилова, Н. В. Харламова, Г. Н. Кузьменко // Актуальные проблемы педиатрии : Тезисы XXIII Конгресса педиатров России с международным участием, Москва, 5-7 марта 2021г. // Российский педиатрический журнал. – 2021. – № 2(1). – С. 66.

139. Этиология и патогенез врожденной пневмонии. Особенности у недоношенных детей / Н. А. Шилова, А. В. Андреев, Н. В. Харламова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 2. – С. 40–47.

140. Юсупова, Э. Ф. Перивентрикулярная лейкомаляция : этиология, патогенез, клиника, исходы / Э. Ф. Юсупова, Д. Д. Гайнетдинова // Вопросы современной педиатрии. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 68–72.

141. A novel method to detect bacterial infection in premature infants : Using a combination of inflammatory markers in blood and saliva / I. Chen, H. Huang, M. Ou-Yang [et al.] // Journal of Microbiology, Immunology and Infection. – 2020. – Vol. 53, № 6. – P. 892-899.

142. A streptococcal lipid toxin induces membrane permeabilization and pyroptosis leading to fetal injury / C. Whidbey, J. Vornhagen, C. Gendrin [et al.] // EMBO Molecular Medicine. – 2015. – Vol. 7. – P. 488–505.

143. A toll-like receptor 9 (rs352140) variant is associated with placental inflammation in newborn infants / V. Karody, S. Reese, N. Kumar [et al.] // J. Fetal. Neonatal. Med. – 2016. – Vol. 29, № 13. – P. 2210–2216.

144. Acute chorioamnionitis and funisitis : definition, pathologic features, and clinical significance / C. J. Kim, R. Romero, P. Chaemsaihong [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2015. – Vol. 213, № 4. – S29–52.

145. Airway inflammation in Japanese COPD patients compared with smoking and nonsmoking controls / N. Ishikawa, N. Hattori, N. Kohno [et al.] // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2015. – Vol. 10. – P. 185–192.
146. Alveolar macrophage cathelicidin deficiency in severe sarcoidosis / B. P. Barna, D. A. Culver, A. Kanchwala [et al.] // *J. Innate. Immun.* – 2012. – Vol. 4. – P. 569–578.
147. Amniotic Fluid Cathelicidin in PPRM Pregnancies : From Proteomic Discovery to Assessing Its Potential in Inflammatory Complications Diagnosis / V. Tambor, M. Kacerovsky, C. Andrys [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, № 7. – e41164.
148. An angiogenic role for the human peptide antibiotic LL-37/hCAP-18 / R. Koczulla, G. von Degenfeld, C. Kupatt [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2003. – Vol. 111, № 11. – P. 1665–1672.
149. Analysis of HLA class I and II alleles regarding to lymph node and distant metastasis in patients with non-small cell lung cancer / I. Bulut, M. Meral, H. Kaynar [et al.] // *Lung Cancer.* – 2009. – Vol. 66, № 2. – P. 231–236.
150. Antibiotic resistance patterns among group B Streptococcus isolates : implications for antibiotic prophylaxis for early-onset neonatal sepsis / F. Capanna, S. P. Emonet, A. Cherkaoui [et al.] // *Swiss Med Wkly.* – 2013. – Vol. 143. – w13778.
151. Antifungal action of human cathelicidin fragment (LL13-37) on *Candida albicans* / J. H. Wong, T. B. Ng, A. Legowska [et al.] // *Peptides.* – 2011. – Vol. 32, № 10. – P. 1996–2002.
152. Antimicrobial Components of the Neonatal Gut Affected Upon Colonization / Y. Kai-Larsen, G. Bergsson, G. Gudmundsson [et al.] // *Pediatric Research.* – 2007. – Vol. 61, № 5, Pt. 1. – P. 530–536.
153. Antimicrobial peptides are expressed and produced in healthy and inflamed human synovial membranes / F. Paulsen, T. Pufe, L. Conradi [et al.] // *J. Pathol.* – 2002. – Vol. 198, № 3. – P. 369–377.
154. Antimicrobial Protein and Peptide Concentrations and Activity in Human Breast Milk Consumed by Preterm Infants at Risk of Late-Onset Neonatal Sepsis / S. Trend, T. Strunk, J. Hibbert [et al.] // *PLoS. One.* – 2015. – Vol. 10, № 2. – e0117038.

155. Antimicrobial activity of native and synthetic surfactant protein B peptides / M. A. Ryan, H. T. Akinbi, A. G. Serrano [et al.] // J. Immunol. – 2006. – Vol. 176, № 1. – P. 416–425.
156. Association between the surfactant protein A (SP-A) gene locus and respiratory-distress syndrome in the Finnish population / M. Rämetsä, R. Haataja, R. Marttila [et al.] // Am. J. Hum. Genet. – 2000. – Vol. 66, № 5. – P. 1569–1579.
157. Association of GST genes polymorphisms with asthma in Tunisian children / C. Hanene, L. Jihene, A. Jamel [et al.] // Mediators Inflamm. – 2007. – Vol. 2007. – P. 19564.
158. Association of HLA-DRB1 Gene Polymorphism with Risk of Asthma: A Meta-Analysis / Y. Yao, L. Zhu, J. Li [et al.] // Med. Sci. Monit. Basic. Res. – 2016. – Vol. 22. – P. 80–86.
159. Association of Human Leukocyte Antigen Class II Alleles With Severe Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus Infection / A. Hajeer, H. Balkhy, S. Johani [et al.] // Ann. Thorac. Med. – 2016. – Vol. 11, № 3. – P. 211–213.
160. Association of Human Leukocyte Antigen with Interstitial Lung Disease in Rheumatoid Arthritis : A Protective Role for Shared Epitope / H. Furukawa, S. Oka, K. Shimada [et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, № 5. – e33133.
161. Association of IL-4RA single nucleotide polymorphisms, HLA-DR and HLA-DQ in children with Alternaria-sensitive moderate-severe asthma / A. P. Knutsen, H. Vijay, B. Kariuki [et al.] // Clinical. and Molecular. Allergy. – 2010. – № 18. – P. 5–8.
162. Auto-antigenic protein-DNA complexes stimulate plasmacytoid dendritic cells to promote atherosclerosis / Y. Döring, H. D. Manthey, M. Drechsler [et al.] // Circulation. – 2012. – Vol. 125, № 13. – P. 1673–1683.
163. Balany, J. Understanding the Impact of Infection, Inflammation, and Their Persistence in the Pathogenesis of Bronchopulmonary Dysplasia / J. Balany, V. Bhandari // Front. Med. – 2015. – Vol. 2. – P. 90.
164. Beresford, M. W. Bronchoalveolar lavage surfactant protein A, B and D concentrations in preterm infants ventilated for respiratory distress syndrome receiving

- natural and synthetic surfactants / M. W. Beresford, N. J. Shaw // *Pediatr. Res.* – 2003. – Vol. 53, № 4. – P. 663–670.
165. Bertaina, A. Major Histocompatibility Complex and Hematopoietic Stem Cell Transplantation : Beyond the Classical HLA Polymorphism / A. Bertaina, M. Andreani // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, № 2. – P. 621.
166. Binding of pulmonary surfactant proteins A and D to *Aspergillus fumigatus* conidia enhances phagocytosis and killing by human neutrophils and alveolar macrophages / T. Madan, P. Eggleton, U. Kishore [et al.] // *Infect. Immun.* – 1997. – Vol. 65, № 8. – P. 3171–3179.
167. Biomarkers and community-acquired pneumonia: tailoring management with biological data / A. Torres, P. Ramirez, B. Montull, R. Menéndez // *Semin. Respir. Crit. Care. Med.* – 2012. – Vol. 33, № 3. – P. 266–271.
168. Biomarkers of inflammation in infants with cystic fibrosis / Th. A. Laguna, C. B. Williams, M. G. Nunez [et al.] // *Respir. Res.* – 2018. – Vol. 19, № 1. – P. 6.
169. Blundel, P. The biology of Clara cells – review paper / P. Blundell // *Int. J. Molec. Med. Adv. Sci.* – 2006. – Vol. 2. – P. 307–311.
170. Board, P. G. Isolation of a cDNA clone and localization of human glutathione S-transferase 2 genes to chromosome band 6p12 / P. G. Board, G. C. Webb // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 1987. – Vol. 84. – P. 2377–2381.
171. Boers, J. E. Number and proliferation of clara cells in normal human airway epithelium / J. E. Boers, A. W. Ambergen, F. B. Thunnissen // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1999. – Vol. 159, № 5, Pt. 1. – P. 1585–1591.
172. Bourbia, A. NF-kappaB in tracheal lavage fluid from intubated premature infants : association with inflammation, oxygen, and outcome / A. Bourbia, M. Cruz, H. Rozycki // *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed.* – 2006. – Vol. 91, № 1. – F36–39.
173. Brinker, K. G. Surfactant protein A modulates the differentiation of murine bone marrow-derived dendritic cells / K. G. Brinker, H. Garner, J. R. Wright // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2003. – Vol. 284, № 1. – L232–241.
174. Brogden, K. A. Antimicrobial peptides : Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? / K. A. Brogden // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2005. – Vol. 3. – P. 238–250.

175. Bronchoalveolar lavage / F. Bonella, S. Ohshimo, P. Bauer [et al.] // *Eur. Respiratory Monograph*. – 2010. – Vol. 48. – P. 59–72.
176. Bronchoalveolar lavage fluid phospholipase A2 activities are increased in human adult respiratory distress syndrome / D. K. Kim, T. Fukuda, B. T. Thompson [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1995. – Vol. 269, № 1, Pt. 1). – L109–118.
177. Candida Chorioamnionitis Leads to Preterm Birth and Adverse Fetal-Neonatal Outcome / Y. Maki, M. Fujisaki, Y. Sato, H. Sameshima // *Infect. Dis. Obstet. and Gynecol.* – 2017. – Vol. 2017. – ID 9060138.
178. Carter, J. E. Neonatal respiratory tract involvement by *Trichomonas vaginalis* : a case report and review of the literature / J. E. Carter, K. C. Whithaus // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 2008. – Vol. 78, № 1. – P. 17–19.
179. Cathelicidin a potential therapeutic peptide for gastrointestinal inflammation and cancer / J. Y. Chow, Z. J. Li, W. K. Wu, C. H. Cho // *World. J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 19, № 18. – P. 2731–2735.
180. Cathelicidin LL-37 in bronchoalveolar lavage and epithelial lining fluids from COPD patients and healthy individuals / M. Golec, C. Reichel, M. Lemieszek [et al.] // *Journal of biological regulators and homeostatic agents*. – 2012. – Vol. 26, № 4. – P. 617–625.
181. Ceragenin CSA-13 induces cell cycle arrest and antiproliferative effects in wild-type and p53 null mutant HCT116 colon cancer cells / K. Kuroda, T. Fukuda, K. Okumura [et al.] // *Anticancer Drugs*. – 2013. – Vol. 24, № 8. – P. 826–834.
182. Challenging diagnosis of congenital malaria in non-endemic areas / L. Romani, S. Pane, C. Severini [et al.] // *Malaria Journal*. – 2018. – Vol. 17. – P. 470.
183. Characteristics of extremely low-birth-weight infant survivors with unimpaired outcomes at 30 months of age / P. Kumar, S. Shankaran, N. Ambalavanan [et al.] // *J. Perinatol.* – 2013. – Vol. 33, № 10. – P. 800–805.
184. Clara cell protein (CC-16) induces a phospholipase A2-mediated inhibition of fibroblast migration in vitro / O. Lesur, A. Bernard, K. Arsalane [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 1995. – Vol. 152, № 1. – P. 290–297.

185. Clara cell protein expression in human neonates during respiratory distress syndrome / J. Arias-Martínez, M. Palacios-Sánchez, D. Delgado-Franco [et al.] // *Cell Physiol Biochem.* – 2012. – Vol. 29, № 5–6. – P. 753–760.
186. Clara cell secretory protein (CC16) as a peripheral blood biomarker of lung injury in ventilated preterm neonates / K. Sarafidis, T. Stathopoulou, E. Diamanti [et al.] // *Eur. J. Pediatr.* – 2008. – Vol. 167. – P. 1297–1303.
187. Clara cell secretory protein oxidation and expression in premature infants who develop bronchopulmonary dysplasia / P. L. Ramsay, F. J. DeMayo, S. E. Hegemier [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 2001. – Vol. 164, № 1. – P. 155–161.
188. Clara Cell Protein Expression in Mechanically Ventilated Term and Preterm Infants with Respiratory Distress Syndrome and at Risk of Bronchopulmonary Dysplasia: A Pilot Study / J. Guzmán-Bárceñas, A. Calderón-Moore, H. Baptista-González, C. Irles // *Can Respir. J.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 8074678.
189. Clara cell secretory protein (CC16) : features as a peripheral lung biomarker / F. Broeckaert, A. Clippe, B. Knoop [et al.] // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2000. – Vol. 923. – P. 68–77.
190. Clara-cell secretory protein in preterm infants' tracheal aspirates correlates with maturity and increases in infection. 2000 / P. Lassus, T. J. Nevalainen, J. U. Eskola, S. Andersson // *Pediatr. Pulmonol.* – 2000. – Vol. 30. – P. 466–469.
191. Clinical and biological role of secretory phospholipase A2 in acute respiratory distress syndrome infants / D. De Luca, E. Lopez-Rodriguez, A. Minucc [et al.] // *Crit. Care.* – 2013. – Vol. 17, № 4. – R163.
192. Clinical characteristics and outcomes of respiratory syncytial virus infection in pregnant women / A. Hause, V. Avadhanula, M. Maccato [et al.] // *Vaccine.* – 2019. – Vol. 37, Is. 26. – P. 3464–3471.
193. Collins, A. Why are preterm newborns at increased risk of infection? / A. Collins, J. H. Weitkamp, J. L. Wynn // *Arch Dis Child Fetal Neonatal.* – 2018. – Vol. 103, № 4. – F391–F394.

194. Combined and independent action of proteins SP-B and SP-C in the surface behavior and mechanical stability of pulmonary surfactant films / D. Schürch, O. L. Ospina, A. Cruz, J. Pérez-Gil // *Biophys J.* – 2010. – Vol. 99. – P. 3290–3299.
195. Comprehensive characterisation of pulmonary and serum surfactant protein D in COPD / C. Winkler, E. Atochina-Vasserman, O. Holz [et al.] // *Respir. Res.* – 2011. – Vol. 12, № 1. – P. 29.
196. Conceptual Approaches to Lung Injury and Repair / R. Zemans, P. Henson, J. Henson, W. Janssen // *Ann. Am. Thorac. Soc.* – 2015. – Vol. 12, Suppl. 1. – S9–S15.
197. Congenital Disseminated HSV-1 Infection in Preterm Twins after Primary Gingivostomatitis of the Mother : Case Report and Review of the Literature / F. Mercolini, F. Verdi, K. Eisendle [et al.] // *Geburtshilfe. Neonatol.* – 2014. – Vol. 218, № 06. – P. 261–264.
198. Congenital Malaria in Newborns Presented at Tororo General Hospital in Uganda : A Cross-Sectional Study / M. Hangi, J. Achan, A. Saruti [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 2019. – Vol. 100, № 5. – P. 1158–1163.
199. Congenital Pneumonia Owing to *Mycoplasma pneumonia* / A. Samonini, C. Grosse, A. Aschero [et al.] // *The Journal of pediatrics.* – 2018. – Vol. 203. – P. 460–460. e1.
200. Cord blood Clara cell protein CC16 predicts the development of bronchopulmonary dysplasia / A. J. J. Schrama, A. Bernard, B. J. H. M. Poorthuis [et al.] // *European Journal of Pediatrics.* – 2008. – Vol. 167, № 11. – P. 1305–1312.
201. Craighead, J. E. Pathology and pathogenesis of human viral disease. – London : Academic Press, 2000. – 447 p.
202. Cross-species transcriptome profiling identifies new alveolar epithelial type I cell-specific genes / C. N. Marconett, B. Zhou, M. Sunohara [et al.] // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2017. – Vol. 56. – P. 310–321.
203. Crouch, E. Collectins and pulmonary innate immunity / E. Crouch, K. Hartshorn, I. Ofek // *Immunol. Rev.* – 2000. – Vol. 173. – P. 52–65.



204. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression / T. T. Wang, F. P. Nestel, V. Bourdeau [et al.] // *Journal of immunology*. – 2004. – Vol. 173. – P. 2909–2912.
205. De Luca, D. Secretory phospholipase A2 pathway in various types of lung injury in neonates and infants : a multicentre translate onal study / D. De Luca, E. Capoluongo, V. Rigo // *BMC Pediatr*. – 2011. – Vol. 11. – P. 101.
206. Derscheid, R. J. The innate immune system of the perinatal lung and responses to respiratory syncytial virus infection / R. J. Derscheid, M. R. Ackermann // *Vet Pathol*. – 2013. – Vol. 50, № 5. – P. 827–841.
207. Differential Effects of Human SP-A1 and SP-A2 on the BAL Proteome and Signaling Pathways in Response to *Klebsiella pneumoniae* and Ozone Exposure / G. Wang, T. M. Umstead, S. Hu [et al.] // *Front. Immunol*. – 2019. – Vol. 10. – P. 561.
208. Differential Expression of Antimicrobial Peptides in Active and Latent Tuberculosis and Its Relationship With Diabetes Mellitus / I. Gonzalez-Curiel, J. Castañeda-Delgado, N. Lopez-Lopez [et al.] // *Hum. Immunol*. – 2011. – Vol. 72, № 8. – P. 656–662.
209. Dore, E. Roles of secreted phospholipase A 2 group IIA in inflammation and host defense / E. Dore, E. Boilard // *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell. Biol. Lipids*. – 2019. – Vol. 1864, № 6. – P. 789–802.
210. Duke, T. Neonatal pneumonia in developing countries / T. Duke // *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. – 2005. – Vol. 90. – F211–F219.
211. Early onset invasive candidiasis in extremely low birth weight infants: perinatal acquisition predicts poor outcome / M. Barton, A. Shen, K. OBrien [et al.] // *Clin. Infect. Dis*. – 2017. – Vol. 64, № 7. – P. 921–927.
212. Early postnatal surge of serum Clara cell secretory protein in newborn infants / A. S. Loughran-Fowlds, J. W. Lin, J. Oei [et al.] // *Neonatology*. – 2012. – Vol. 101, № 2. – P. 125–131. doi: 10.1159/000329557.
213. Effect of HLA class II genotype on T helper lymphocyte responses and viral control in hepatitis C virus infection / G. Harcourt, S. Hellier, M. Bunce [et al.] // *J. Viral. Hepat*. – 2001. – Vol. 8, № 3. – P. 174–179.

214. Englund, J. Respiratory Virus Infection During Pregnancy : Does It Matter? / J. Englund, H. Chu // *J. Infect. Dis.* – 2018. – Vol. 218, № 4. – P. 512–515.
215. Executive and memory function in adolescents born very preterm / T. M. Luu, L. Ment, W. Allan [et al.] // *Pediatrics.* – 2011. – Vol. 127, № 3. – e639–646.
216. Expression and activity of beta-defensins and LL-37 in the developing human lung / T. D. Starner, B. Agerberth, G. H. Gudmundsson, P. B. Jr. McCray // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 174, № 3. – P. 1608–1615. DOI: 10.4049/jimmunol.174.3.1608.
217. Ferritin and the response to oxidative stress / K. Orino, L. Lehman, Y. Tsuji [et al.] // *Biochem. J.* – 2001. – Vol. 357, Pt. 1. – P. 241–247.
218. Frequency of Class I and II HLA alleles in patients with lung cancer according to chemotherapy response and 5-year survival / O. Araz, E. Y. Uscar, M. Meral [et al.] // *The Clinical Respiratory Journal.* – 2015. – Vol. 9, № 3. – P. 297–304.
219. Gallacher, D. Common respiratory conditions of the newborn / D. Gallacher, K. Hart, S. Kotecha // *Breathe (Sheff).* – 2016. – Vol. 12, № 1. – P. 30–42. doi: 10.1183/20734735.000716.
220. GBD Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013 // *Lancet.* – 2015. – Vol. 385, № 9963. – P. 117–171.
221. Gene map of the extended human MHC / R. Horton, L. Wilming, V. Rand [et al.] // *Nat. Rev. Genet.* – 2004. – Vol. 5, № 12. – P. 889–899.
222. Genetic Polymorphisms and Sepsis in Premature Neonates / S. Esposito, A. Zampiero, L. Pagni [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 7. – P. 101248.
223. Genetic Polymorphisms of SP-A, SP-B, and SP-D and Risk of Respiratory Distress Syndrome in Preterm Neonates / H. Y. Chang, F. Li, F. S. Li [et al.] // *Med. Sci. Monit.* – 2016. – Vol. 22. – P. 5091–5100.
224. Genetic variability of glutathione S-transferase enzymes in human populations : functional inter-ethnic differences in detoxification systems / R. Polimanti, C. Carboni, I. Baesso [et al.] // *Gene.* – 2013. – Vol. 512, № 1. – P. 102–107.

225. Glutathione S transferase deficiency and passive smoking increase childhood asthma / M. Kabesch, C. Hoefler, D. Carr [et al.] // *Thorax*. – 2004. – Vol. 59, № 7. – P. 569–573.
226. Glutathione S-transferase copy number variation alters lung gene expression / M. W. Butler, N. R. Hackett, J. Salit [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2011. – Vol. 38, № 1. – P. 15–28.
227. Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 polymorphisms : susceptibility and outcome in lung cancer patients / L. Sreeja, V. Syamala, S. Hariharan [et al.] // *J. Exp. Ther. Oncol.* – 2008. – Vol. 7, № 1. – P. 73–85.
228. Glutathione S-transferase T1 and M1 polymorphisms are associated with lung cancer risk in a gender-specific manner / C. Pan, G. Zhu, Z. Yan [et al.] // *Oncol. Res. Treat.* – 2014. – Vol. 37, № 4. – P. 164–169.
229. Glutathione S-transferases of human lung : characterization and evaluation of the protective role of the alpha-class isozymes against lipid peroxidation / S. S. Singhal, M. Saxena, H. Ahmad [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1992. – Vol. 299, № 2. – P. 232–241. DOI: 10.1016/0003-9861(92)90269-3.
230. Glutathione S-transferases promote proinflammatory astrocyte-microglia communication during brain inflammation / Sh. Kano, E. Choi, E. Dohi [et al.] // *Sci. Signal.* – 2019. – Vol. 12, № 569. – P. 21–24.
231. Group B streptococcus isolates from septic patients and healthy carriers differentially activate platelet signaling cascades / C. Siau, A. Kobsar, C. Dornieden [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2006. – Vol. 95. – P. 836–849. doi: 10.1160 / th05-08-0534.
232. GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms as major risk factors for bronchopulmonary dysplasia in a Chinese Han population / X. Wang, W. Li, W. Liu [et al.] // *Gene*. – 2014. – Vol. 533, № 1. – P. 48–51.
233. GSTM1 null genotype in COPD and lung cancer : evidence of a modifier or confounding effect? / R. P. Young, R. J. Hopkins, B. A. Hay, G. D. Gamble // *Appl. Clin. Genet.* – 2011. – Vol. 4. – P. 137–144.

234. GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphism and lung cancer risk in relation to tobacco smoking / J. Schneider, U. Bernges, M. Philipp, H. J. Woitowitz // *Cancer Lett.* – 2004. – Vol. 208, № 1. – P. 65–74.
235. Hafner, D. Effects of rSP-C surfactant on oxygenation and histology in a rat-lung-lavage model of acute lung injury / D. Hafner, P. G. Germann, D. Hauschke // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1998. – Vol. 158, № 1. – P. 270–278.
236. Han, S. The Role of Surfactant in Lung Disease and Host Defense against Pulmonary Infections / S. Han, R. K. Mallampalli // *Ann. Am. Thorac. Soc.* – 2015. – Vol. 2, № 5. – P. 765–774.
237. Hayes, J. D. The glutathione S-transferase supergene family : regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance / J. D. Hayes, D. J. Pulford // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* – 1995. – Vol. 30. – P. 445–600.
238. Hayes, J. D. Glutathione transferases / J. D. Hayes, J. U. Flanagan, I. R. Jowsey // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2005. – Vol. 45. – P. 51–88.
239. Hearing loss in very preterm infants : should we wait or treat? / S. Frezza, P. Catenazzi, R. Gallus [et al.] // *Acta Otorhinolaryngol Ital.* – 2019. – Vol. 39, № 4. – P. 257–262.
240. Hermans, C. Lung epithelium-specific proteins : characteristics and potential applications as markers / C. Hermans, A. Bernard // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1999. – Vol. 159. – P. 646–678.
241. HLA distribution in COPD patients / R. Faner, B. Nuñez, J. Sauleda [et al.] // *COPD.* – 2013. – Vol. 10, № 2. – P. 138–146.
242. HLA-A2 and chronic lung disease in neonates / D. A. Clark, L. G. Pincus, M. Oliphant [et al.] // *JAMA.* – 1982. – Vol. 248, № 15. – P. 1868–1869.
243. Hooven, T. Pneumonia / T. Hooven, R. Polin // *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine.* – 2017. – Vol. 22. – P. 206–213.
244. Host defense peptide LL-37, in synergy with inflammatory mediator IL-1beta, augments immune responses by multiple pathways / J. Yu, N. Mookherjee, K. Wee [et al.] // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 179, № 11. – P. 7684–7691.

245. Host defense peptides and their antimicrobial-immunomodulatory duality / L. Steinstraesser, U. Kraneburg, F. Jacobsen, S. Al-Benna // *Immunobiology*. – 2011. – Vol. 216, № 3. – P. 322–333.
246. Host genetics and susceptibility to congenital and childhood cytomegalovirus infection : a systematic review / A. Gelemanović, K. Dobberpuhl, G. Krakar [et al.] // *Croat. Med. J.* – 2016. – Vol. 57, № 4. – P. 321–330.
247. Hui, Y. Antimicrobial peptides in nasal secretion and mucosa with respect to *S. aureus* colonisation in Wegener's granulomatosis / Y. Hui // *Clinical and experimental rheumatology*. – 2011. – Vol. 29. – S49–S56.
248. Human antimicrobial peptide LL-37 modulates proinflammatory responses induced by cytokine milieus and double-stranded RNA in human keratinocytes / X. Chen, T. Takai, Y. Xie [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2013. – Vol. 433, № 4. – P. 532–537.
249. Human cathelicidin LL-37 is a chemoattractant for eosinophils and neutrophils that acts via formyl-peptide receptors / G. S. Tjabringa, D. K. Ninaber, J. W. Drijfhout [et al.] // *Int. Arch. Allergy. Immunol.* – 2006. – Vol. 140, № 2. – P. 103–112.
250. Human-Leukocyte Antigen Class I Cw 1502 and Class II DR 0301 Genotypes Are Associated with Resistance to Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Infection / S. Wang, K. Chen, M. Chen [et al.] // *Viral. Immunology*. – 2011. – Vol. 24, № 5. – P. 421–426.
251. IL-1 $\beta$ /IL-6/CRP and IL-18/ferritin: Distinct Inflammatory Programs in Infections / J. Slaats, J. Ten Oever, F. L. van de Veerdonk, M. G. Netea // *PLoS Pathog.* – 2016. – Vol. 12, № 12. – e1005973. doi: 10.1371.
252. Increased prevalence of low oligomeric state surfactant protein D with restricted lectin activity in bronchoalveolar lavage fluid from preterm infants / S. Kotecha, P. L. Davies, H. W. Clark, E. P. McGreal // *Thorax*. – 2013. – Vol. 68, № 5. – P. 460–467. doi: 10.1136/thoraxjnl-2012-202729.
253. Individuals susceptible to lung adenocarcinoma defined by combined HLA-DQA1 and TERT genotypes / M. Nishimura, H. Kunitoh, Y. Shimada [et al.] // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. – 2016. – Vol. 77, № 6. – P. 1165–1170.

254. Induction of keratinocyte migration via transactivation of the epidermal growth factor receptor by the antimicrobial peptide LL-37 / S. Tokumaru, K. Sayama, Y. Shirakata // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175, № 7. – P. 4662–4668.
255. Infant lungs are preferentially infected by adenovirus and herpes simplex virus type 1 vectors : role of the tissue mesenchymal cells / A. Massler, D. Kolodkin-Gal, K. Meir [et al.] // *J. Gene. Med.* – 2011. – Vol. 13, № 2. – P. 101–113.
256. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant / C. Wilson, V. Nizet, Y. Maldonado [et al.]. – 8–th ed. – Saunders, 2014. – 1272 p.
257. Influenza in pregnancy / M. J. Memoli, H. Harvey, D. M. Morens, J. K. Taubenberger // *Influenza Other Respir. Viruses.* – 2013. – Vol. 7, № 6. – P. 1033–1039.
258. Initial presentation of neonatal herpes simplex virus infection / A. L. Curfman, E. W. Glissmeyer, F. A. Ahmad [et al.] // *J. Pediatr.* – 2016. – Vol. 172. – P. 121–126.
259. Innate Immunity of Neonates and Infants / J. C. Yu, H. Khodadadi, A. Malik [et al.] // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1759.
260. Insulin-like Growth Factor 1 Supports a Pulmonary Niche that Promotes Type 3 Innate Lymphoid Cell Development in Newborn Lungs / K. Oherle, E. Acker, M. Bonfield [et al.] // *Immunity.* – 2020. – Vol. 52, № 4. – P. 716–718.
261. Interaction of Pulmonary Surfactant Protein C with CD14 and Lipopolysaccharide / L. Augusto, M. Synguelakis, J. Johansson [et al.] // *Infect Immun.* – 2003. – Vol. 71, № 1. – P. 61–67.
262. Interfacial kinetic and binding properties of the complete set of human and mouse groups I, II, V, X, and XII secreted phospholipases A2 / A. G. Singer, F. Ghomashchi, C. Le Calvez [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry.* – 2002. – Vol. 277. – P. 48535.
263. Intrauterine Infection, Immune System and Premature Birth / F. R. Helmo, E. A. Rodovalho Alves, R. A. de Andrade Moreira [et al.] // *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* – 2018. – Vol. 31, № 9. – P. 1227–1233.

264. Ivaschenko, T. E. Glutathione- S-transferase micro and theta gene polymorphisms as new risk factors of atopic bronchial asthma / T. E. Ivaschenko, O. G. Sideleva, V. S. Baranov // J. Mol. Med. 2002. – Vol. 80, № 1. – P. 39–43.
265. James, S. H. Neonatal herpes simplex virus infection / S. H. James, D. W. Kimberlin // Infect. Dis. Clin. North. Am. – 2015. – Vol. 29, № 3. – P. 391–400.
266. Kahlenberg, J. M. Little peptide, big effects : the role of LL-37 in inflammation and autoimmune disease / J. M. Kahlenberg, M. J. Kaplan // J. Immunol. – 2013. – Vol. 191, № 10. – P. 4895–4901.
267. Kaser, M. R. Inhibition of bacterial growth by synthetic SP-B1-78 peptides / M. R. Kaser, G. G. Skouteris // Peptides. – 1997. – Vol. 18, № 9. – P. 1441–1444.
268. Kerr, M. H. Surfactant protein levels in severe respiratory syncytial virus infection / M. H. Kerr, J. Y. Paton // Am. J. Respir. Crit. Care. Med. – 1999. – Vol. 159. – P. 1115–1118.
269. Kitsiouli, E. Phospholipases A2 subclasses in acute respiratory distress syndrome / E. Kitsiouli, G. Nakos, M. E. Lekka // Biochim Biophys Acta. – 2009. – Vol. 1792. – P. 1241–1248.
270. KL-6 regulated the expression of HGF, collagen and myofibroblast differentiation / L. Xu, D. R. Yan, S. L. Zhu [et al.] // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. – 2013. – Vol. 17, № 22. – P. 3073–3077.
271. Knockdown of secretory phospholipase A2 IIa reduces lung cancer growth in vitro and in vivo / J. A. Yu, D. Mauchley, H. Li [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 2012. – Vol. 144, № 5. – P. 1185–1191.
272. Köhl, J. Anaphylatoxins and infectious and non- infectious inflammatory diseases / J. Köhl // Mol. Immunol. – 2001. – Vol. 38, № 2–3. – P. 175–187.
273. Lack of group X secreted phospholipase A2 increases survival following pandemic H1N1 influenza infection / A. A. Kelvin, N. Degousee, D. Banner [et al.] // Virology. – 2014. – Vol. 454–455. – P. 78–92.
274. Language in 2-year-old children born preterm and term : a cohort study / K. Sanchez, A. J. Spittle, J. L. Cheong [et al.] // Arch. Dis. Child. – 2019. – Vol. 104, № 7. – P. 647–652.

275. Liu, J. Lung ultrasonography for the diagnosis of neonatal lung disease / J. Liu // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. – 2014. – Vol. 27, № 8. – P. 856–861.
276. LL37 Inhibits *Aspergillus fumigatus* Infection via Directly Binding to the Fungus and Preventing Excessive Inflammation / X. L. Luo, J. X. Li, H. R. Huang [et al.] // Front. Immunol. – 2019. – Vol. 10. – P. 283.
277. Localization of lung surfactant protein D on mucosal surfaces in human tissues / J. Madsen, A. Kliem, I. Tornøe [et al.] // J. Immunol. – 2000. – Vol. 164, № 11. – P. 5866–5870.
278. Long-term impact of bronchopulmonary dysplasia on pulmonary function / J. Landry, T. Chan, L. Lands, D. Dick Menzies // Can. Respir. J. – 2011. – Vol. 18, № 5. – P. 265–270.
279. Lung surfactant proteins A and D can inhibit specific IgE binding to the allergens of *Aspergillus fumigatus* and block allergen-induced histamine release from human basophils / T. Madan, U. Kishore, A. Shah [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 1997. – Vol. 110, № 2. – P. 241–249.
280. Lymphocyte-Specific Biomarkers Associated With Preterm Birth and Bronchopulmonary Dysplasia / S. Bhattacharya, J. A. Mereness, A. M. Baran [et al.] // Front. Immunol. – 2021. – Vol. 21, № 11. – P. 563473.
281. Mader, J. S. Cationic antimicrobial peptides as novel cytotoxic agents for cancer treatment / J. S. Mader, D. W. Hoskin // Exper. Opin. Invest. Drugs. – 2006. – Vol. 15. – P. 933–946.
282. Major Histocompatibility Complex (MHC) Class I and MHC Class II Proteins : Conformational Plasticity in Antigen Presentation / M. Wieczorek, E. Abualrous, J. Sticht [et al.] // Front. Immunol. – 2017. – Vol. 8. – P. 292.
283. Manual of neonatal care / ed. by J. P. Cloherty, E. C. Eichenwald, A. R. Stark [et al.] – 5th ed. – Philadelphia, 2003. – 816 p.
284. Maternal pregnancy-induced hypertension increases the subsequent risk of neonatal candidiasis : a nationwide population-based cohort study / S. N. Chen, P. H. Wang, M. F. Hsieh [et al.] // Taiwan. J. Obstet. Gynecol. – 2019. – Vol. 58, № 2. – P. 261–265.



285. McCormack, F. X. The pulmonary collectins, SP-A and SP-D, orchestrate innate immunity in the lung / F. X. McCormack, J. A. Whitsett // *J. Clin. Invest.* – 2002. – Vol. 109, № 6. – P. 707–712.
286. Mendz, G. L. Bacterial aetiological agents of intraamniotic infections and preterm birth in pregnant women / G. L. Mendz, N. O. Kaakoush, J. A. Quinlivan // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2013. – Vol. 3. – P. 58. doi: 10.3389 / fcimb.2013.00058.
287. Morse, S. *Atlas of Sexually Transmitted Diseases and AIDS* / S. Morse, K. Holmes, R. Ballard. – Saunders, 2010. – 400 p.
288. Moskowitz, P. S. The medical pneumothorax / P. S. Moskowitz, N. T. Griscom // *Radiology.* – 1976. – Vol. 120, № 1. – P. 143–147.
289. Nationwide survey of neonatal invasive fungal infection in Japan / N. Ishiwada, H. Kitajima, I. Morioka [et al.] // *Med. Mycol.* – 2018. – Vol. 56, Issue 6. – P. 679–686.
290. Neonatal bronchoscopy : Role in respiratory disease of the newborn-A 7 year experience / H. R. Mackanjee, L. Naidoo, P. Ramkaran [et al.] // *Pediatr. Pulmonol.* – 2019. – Vol. 54, № 4. – P. 415–420.
291. Neonatal invasive *Haemophilus influenzae* disease in England and Wales : epidemiology, clinical characteristics, and outcome / S. Collins, D. Litt, S. Flynn [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2015. – Vol. 60, № 12. – P. 1786–1792.
292. Neonatal *Trichomonas vaginalis* infection : a case report and review of literature / J. Trintis, N. Epie, R. Boss, S. Riedel // *Int. J. STD AIDS.* – 2010. – Vol. 21, № 8. – P. 606–607.
293. Neutrophil extracellular trap-associated protein activation of the NLRP3 inflammasome is enhanced in lupus macrophages / J. M. Kahlenberg, C. Carmona-Rivera, C. K. Smith, M. J. Kaplan // *J. Immunol.* – 2013. – Vol. 190, № 3. – P. 1217–1226.
294. Neutrophil-derived cathelicidin protects from neointimal hyperplasia / O. Soehnlein, S. Wantha, S. Simsekylmaz [et al.] // *Sci. Transl. Med.* – 2011. – Vol. 3, № 103. – P. 103ra98.

295. Niño, D. Necrotizing enterocolitis : new insights into pathogenesis and mechanisms / D. Niño, C. Sodhi, D. Hackam // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2016. – Vol. 13. – P. 590–600.
296. Nissen, M. D. Congenital and neonatal pneumonia / M. D. Nissen // *Paediatr. Respir. Rev.* – 2007. – Vol. 8, № 3. – P. 195–203.
297. Noguee, L. M. Genetic causes of surfactant protein abnormalities / L. M. Noguee // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2019. – Vol. 31, № 3. – P. 330–339.
298. O'Reilly, M. Giving New Identities to Alveolar Epithelial Type I Cells / M. O'Reilly // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2017. – Vol. 56, № 3. – P. 277–278.
299. Outcomes of extremely low birth weight (<1 kg) and extremely low gestational age (<28 weeks) infants with bronchopulmonary dysplasia : effects of practice changes in 2000 to 2003 / K. Kobaly, M. Schluchter, N. Minich [et al.] // *Pediatrics.* – 2008. – Vol. 121, № 1. – P. 73–81.
300. Outcomes for Extremely Premature Infants / H. C. Glass, A. T. Costarino, S. A. Stayer [et al.] // *Anesth Analg.* – 2015. – Vol. 120, № 6. – P. 1337–1351.
301. Oxygen radical disease in the newborn, revisited : Oxidative stress and disease in the newborn period / M. Perez, M. E. Robbins, C. Revhaug, O. D. Saugstad // *Free. Radic. Biol. Med.* – 2019. – Vol. 142. – P. 61–72.
302. Park, S. C. The role of antimicrobial peptides in preventing multidrug-resistant bacterial infections and biofilm formation / S. C. Park, Y. Park, K. S. Hahm // *Int. J. Mol. Sci.* – 2011. – Vol. 12. – P. 5971–5992.
303. Patel, R. M. Short and Long-Term Outcomes for Extremely Preterm Infants / R. M. Patel // *Am. J. Perinatol.* – 2016. – Vol. 33, № 3. – P. 318–328.
304. Perez-Gil, J. Pulmonary surfactant pathophysiology: current models and open questions / J. Perez-Gil, T. E. Weaver // *Physiology.* – 2010. – Vol. 25, № 3. – P. 132–141.
305. Phospholipase A2 inhibitors as potential anti-inflammatory agents / M. C. Meyer, P. Rastogi, C. S. Beckett, J. McHowat // *Curr. Pharm. Des.* – 2005. – Vol. 11, № 10. – P. 1301–1312.

306. Physiological Activity of Pulmonary Surfactant with Low Protein Content : Effect of Enrichment with Synthetic Phospholipids / P. Berggren, T. Curstedt, G. Grossman [et al.] // *Experimental Lung Research*. – 1985. – Vol. 8, № 1. – P. 29–51.
307. Piperaki, E. T. Malaria in Europe : emerging threat or minor nuisance? / E. T. Piperaki, G. L. Daikos // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2016. – Vol. 22, № 6. – P. 487–493.
308. Platelet microparticles are internalized in neutrophils via the concerted activity of 12-lipoxygenase and secreted phospholipase A2-IIA / A. C. Ducheze, L. H. Boudreau, J. Bollinger [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2015. – Vol. 112. – E3564.
309. Pneumoproteins are associated with pulmonary function in HIV-infected persons. For the Inflammation, Aging, Microbes and Obstructive Lung Disease (I AM OLD) / D. Jeon, E. G. Chang, M. McGing [et al.] // *Study PLoS One*. – 2019. – Vol. 14, № 10. – e0223263.
310. Possible Vertical Transmission of SARS-CoV-2 From an Infected Mother to Her Newborn / L. Dong, J. Tian, S. He [et al.] // *The Journal of the American Medical Association* • March. – 2020. – Vol. 323, № 18. – P. 1846-1848.
311. Potential role of Clara cell protein, an endogenous phospholipase A2 inhibitor, in acute lung injury / P. G. Jorens, Y. Sibille, N. J. Goulding [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 1995. – Vol. 8. – P. 1647–1653.
312. Preterm birth : Inflammation, fetal injury and treatment strategies / A. K. Boyle, S. F. Rinaldi, J. E. Norman, S. J. Stock // *Journal of Reproductive Immunology*. – 2017. – Vol. 119. – P. 62–66.
313. Proactive management promotes outcome in extremely preterm infants : a population-based comparison of two perinatal management strategies / S. Hakansson, A. Farooqi, P. A. Holmgren [et al.] // *Pediatrics*. – 2004. – Vol. 114, № 1. – P. 58–64.
314. Protecting the Newborn and Young Infant from Infectious Diseases : Lessons from Immune Ontogeny / T. R. Kollmann, B. Kampmann, S. K. Mazmanian [et al.] // *Immunity*. – 2017. – Vol. 46. – P. 350–363. published Online.

315. *Pseudomonas aeruginosa* Elastase Provides an Escape from Phagocytosis by Degrading the Pulmonary Surfactant Protein-A / Z. Kuang, Y. Hao, B. Walling [et al.] // PLoS. One. – 2011. – Vol. 6, № 11. – e27091.
316. Rebbeck, T. R. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility / T. R. Rebbeck // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. – 1997. – Vol. 6, № 9. – P. 733–743.
317. Recombinant rat surfactant-associated protein D inhibits human T lymphocyte proliferation and IL-2 production / P. J. Borron, E. C. Crouch, J. F. Lewis [et al.] // J. Immunol. – 1998. – Vol. 161, № 9. – P. 4599–603.
318. Regulation of TH2 responses by the pulmonary Clara cell secretory 10-kd protein / C. H. Hung, L. C. Chen, Z. Zhang [et al.] // J. Allergy. Clin. Immunol. – 2004. – Vol. 114, № 3. – P. 664–670.
319. Regulatory Functions of Phospholipase 2 / M. Murakami, Y. Nakatani, G. Atsumi [et al.] // Critical. Reviews in Immunology. – 2017. – Vol. 37. – P. 121–179.
320. Reinholz, M. Cathelicidin LL-37 : an antimicrobial peptide with a role in inflammatory skin disease / M. Reinholz, T. Ruzicka, J. Schaubert // Ann. Dermatol. – 2012. – Vol. 24, № 2. – P. 126–135.
321. Reiterer, F. Neonatal pneumonia / F. Reiterer // Neonatal Bacterial Infection / ed. B. Resch. – Rijeka : INTECH, 2013. – P. 19–32.
322. Relationship between glutathione S-transferase gene polymorphisms and enzyme activity in Hong Kong Chinese asthmatics / J. C. Mak, S. P. Ho, H. C. Leung [et al.] // Clin. Exp. Allergy. – 2007. – Vol. 37, № 8. – P. 1150–1157.
323. Relationship between levels of secreted phospholipase A<sub>2</sub> groups IIA and X in the airways and asthma severity / T. S. Hallstrand, Y. Lai, Z. Ni [et al.] // Clin. Exp. Allergy. – 2011. – Vol. 41, № 6. – P. 801–810.
324. Reynolds, S. D. Clara cell : progenitor for the bronchiolar epithelium / S. D. Reynolds, A. M. Malkinson // Int. J. Biochem. Cell. Biol. – 2010. – Vol. 42, № 1. – P. 1–4.

325. Richard, L. Humoral injury to the lungs : congenital, perinatal and postnatal infection / L. Richard, Jr. Auten // *Fetal and Neonatal Physiology : Third Edition* / R. A. Polin, W. W. Fox, S. H. Abman. –Philadelphia, Pa.; London : Saunders, 2004.
326. Risk factors for poor prognosis of neonatal bacterial meningitis / M. D. Liu, F. L. Xu, W. L. Duan [et al.] // *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. – 2019. – Vol. 21, № 11. – P. 1064–1068.
327. Rocha, G. HLA and bronchopulmonary dysplasia susceptibility : a pilot study / G. Rocha // *Dis. Markers*. – 2011. – Vol. 31, № 4. – P. 199–203.
328. Roles of hydrophobicity and charge distribution of cationic antimicrobial peptides in peptide-membrane interactions / L. M. Yin, M. A. Edwards, J. Li [et al.] // *J. Biol. Chem*. – 2012. – Vol. 287, № 10. – P. 7738–7745.
329. Saleh, M. Host-response biomarkers for the diagnosis of bacterial respiratory tract infections / M. Saleh, E. van de Garde, J. Coen van Hasselt // *Clin. Chem. Lab. Med*. – 2019. – Vol. 57, № 4. – P. 442–451.
330. Sales, T. A. Current Anti-Inflammatory Therapies and the Potential of Secretory Phospholipase A2 Inhibitors in the Design of New Anti-Inflammatory Drugs: A Review of 2012 – 2018 / T. A. Sales, S. Marcussi, T. C. Ramalho // *Curr. Med. Chem*. – 2020. – Vol. 27, № 3. – P. 477–497.
331. Schaller-Bals, S. Increased Levels of Antimicrobial Peptides in Tracheal Aspirates of Newborn Infants during Infection / S. Schaller-Bals, A. Schulze, R. Bals // *American journal of respiratory and critical care medicine*. – 2002. – Vol. 165. – P. 992–995.
332. School-age outcomes of extremely preterm or extremely low birth weight children / E. A. Hutchinson, C. R. De Luca, L. W. Doyle [et al.] // *Pediatrics*. – 2013. – Vol. 131, № 4. – e1053–1061.
333. Schwartz, D. Potential Maternal and Infant Outcomes from Coronavirus 2019-nCoV (SARS-CoV-2) Infecting Pregnant Women : Lessons from SARS, MERS, and Other Human Coronavirus Infections / D. Schwartz, A. Graham // *Viruses*. – 2020. – Vol. 12, № 2. – P. 194.
334. Schweizer, F. Cationic amphiphilic peptides with cancer-selective toxicity / F. Schweizer // *Eur. J. Pharmacol*. – 2009. – Vol. 625, № 1–3. – P. 190–194.

335. Secretory phospholipase A(2) in newborn infants with sepsis / A. J. J. Schrama, A. J. de Beaufort, B. J. H. M. Poorthuis [et al.] // *J. Perinatol.* - 2008. – Vol. 28, № 4. – P. 291–296.
336. Serum concentrations of antimicrobial peptide cathelicidin LL-37 in patients with bacterial lung infections / K. Majewski, E. Kozłowska, P. Żelechowska, E. Brzezińska-Błaszczyk // *Cent. Eur. J. Immunol.* – 2018. – Vol. 43, № 4. – P. 453–457.
337. Serum CC-10 in inflammatory lung diseases / Q. Ye, M. Fujita, H. Ouchi [et al.] // *Respiration.* – 2004. – Vol. 71, № 5. – P. 505–510.
338. Serum surfactant protein D as a marker for bronchopulmonary dysplasia / S. Vinod, A. Gow, B. Weinberger [et al.] // *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* – 2019. – Vol. 32, № 5. – P. 815–819.
339. Serum surfactant protein D is steroid sensitive and associated with exacerbations of COPD / D. A. Lomas, E. K. Silverman, L. D. Edwards [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2009. – Vol. 34, № 1. – P. 95–102.
340. Severe bronchopulmonary dysplasia : outcomes before and after the implementation of an inpatient multidisciplinary team / R. L. McKinney, J. J. Schmidhoefer, A. L. Balasco [et al.] // *J. Perinatol.* – 2021. – Vol. 41, № 3. – P. 544–550.
341. Sharma, D. Role of chest ultrasound in neonatal lung disease : a review of current evidences / D. Sharma, N. Farahbakhsh // *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* – 2019. – Vol. 32, № 2. – P. 310–316.
342. Shaw, G. Progress in understanding the genetics of Bronchopulmonary Dysplasia / G. Shaw, H. O'Brodovich // *Semin. Perinatol.* – 2013. – Vol. 37, № 2. – P. 85–93.
343. Streptococcus pneumoniae neonatal infection / R. Nader, S. Tondeur, A. Barrans [et al.] // *Annales de biologie clinique.* – 2005. – Vol. 63, № 6. – P. 643–646.
344. Study of Clara cell 16, KL-6, and surfactant protein-D in serum as disease markers in pulmonary sarcoidosis / R. Janssen, H. Sato, J. Grutters [et al.] // *Chest.* – 2003. – Vol. 124, № 6. – P. 2119–2125.

345. Surfactant associated protein-A inhibits human lymphocyte proliferation and IL-2 production / P. J. Borron, R. A. Veldhuizen, J. F. Lewis [et al.] // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 1996. – Vol. 15, № 1. – P. 115–121.
346. Surfactant Protein A and B Gene Polymorphisms and Risk of Respiratory Distress Syndrome in Late-Preterm Neonates / M.- E. Tsitoura, E. Stavrou, I. Maraziotis [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, № 11. – e0166516.
347. Surfactant protein A is a principal and oxidation-sensitive microbial permeabilizing factor in the alveolar lining fluid / A. I. Kuzmenko, H. Wu, S. Wan, F. X. McCormack // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280, № 27. – P. 25913–25919.
348. Surfactant protein B gene polymorphism in preterm babies with respiratory distress syndrome / P. P. R. Lyra, E. M. A. Diniz, K. Abe-Sandes [et al.] // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2011. – Vol. 44, № 1. – P. 66–72.
349. Surfactant protein D binding to terminal alpha1-3-linked fucose residues and to *Schistosoma mansoni* / J. K. van de Wetering, van Remoortere, A. B. Vaandrager [et al.] // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2004. – Vol. 31, № 5. – P. 565–572.
350. Surfactant protein D enhances bacterial antigen presentation by bone marrow-derived dendritic cells / K. G. Brinker, E. Martin, P. Borron [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2001. – Vol. 281, № 6. – L1453–1463.
351. Surfactant protein D in newborn infants : factors influencing surfactant protein D levels in umbilical cord blood and capillary blood / M. Dahl, P. O. Juvonen, U. Holmskov, S. Husby // *Pediatr. Res.* – 2005. – Vol. 58, № 5. – P. 908–912.
352. Surfactant protein D levels in umbilical cord blood and capillary blood of premature infants. The influence of perinatal factors / M. Dahl, U. Holmskov, S. Husby, P. O. Juvonen // *Pediatr. Res.* – 2006. – Vol. 59, № 6. – P. 806–810.
353. Surfactant Proteins A and D : Trimerized Innate Immunity Proteins with an Affinity for Viral Fusion Proteins / A. Watson, M. J. S. Phipps, H. W. Clark [et al.] // *J. Innate. Immun.* – 2019. – Vol. 11, № 1. – P. 13–28.
354. Surfactant proteins SP-B and SP-C and their precursors in bronchoalveolar lavages from children with acute and chronic inflammatory airway disease / O. Tafel, P. Latzin, K. Paul [et al.] // *BMC Pulm. Med.* – 2008. – Vol. 8, № 1. – P. 6.

355. Surfactant protein C dampens inflammation by decreasing JAK/STAT activation during lung repair / H. Jin, A. K. Ciechanowicz, A. R. Kaplan [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2018. – Vol. 314, № 5. – L882–L892.
356. Surfactant-secreted phospholipase A<sub>2</sub> interplay and respiratory outcome in preterm neonates / D. De Luca, S. Shankar-Aguilera, C. Autilio [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2020. – Vol. 319, № 1. – L95–L104.
357. T cell developmental arrest in former premature infants increases risk of respiratory morbidity later in infancy / K. M. Scheible, J. Emo, N. Laniewski [et al.] // *JCI Insight.* – 2018. – Vol. 3, № 4. – e96724.
358. The antimicrobial peptide cathelicidin modulates *Clostridium difficile*-associated colitis and toxin A-mediated enteritis in mice / T. C. Hing, S. Ho, D. Q. Shih [et al.] // *Gut.* – 2013. – Vol. 62, № 9. – P. 1295–1305.
359. The antimicrobial peptide LL-37 alters human osteoblast Ca<sup>2+</sup> handling and induces Ca<sup>2+</sup>-independent apoptosis / J. Säll, M. Carlsson, O. Gidlöf [et al.] // *J. Innate. Immun.* – 2013. – Vol. 5, № 3. – P. 290–300.
360. The antimicrobial peptide cathelicidin protects the urinary tract against invasive bacterial infection / M. Chromek, Z. Slamová, P. Bergman [et al.] // *Nat. Med.* – 2006. – Vol. 12, № 6. – P. 636–641.
361. The Development of Extremely Premature Infants / W. Voss, E. Hobbiebrunken, U. Ungermann [et al.] // *Dtsch. Arztebl. Int.* – 2016. – Vol. 113. – P. 871–878.
362. The effect of maternal flora on *Candida* colonisation in the neonate / A. Filippidi, E. Galanakis, S. Maraki [et al.] // *Mycoses.* – 2014. – Vol. 57, № 1. – P. 43–48.
363. The effects of preterm birth on visual development / M. Leung, B. Thompson, J. Black [et al.] // *Clin. Exp. Optom.* – 2018. – Vol. 101, № 1. – P. 4–12.
364. The epidemiology and clinical features of *Mycoplasma pneumoniae* infection in neonates / F. Huang, L. Lu, W. Jiang [et al.] // *The Brazilian Journal of Infectious Diseases.* – 2016. – Vol. 20, Is. 4. – P. 374–378.
365. The human antimicrobial peptide LL-37 suppresses apoptosis in keratinocytes / C. I. Chamorro, G. Weber, A. Grönberg [et al.] // *J. Invest. Dermatol.* – 2009. – Vol. 129, № 4. – P. 937–944.



366. The human lung surfactant proteins A (SP-A) and D (SP-D) interact with apoptotic target cells by different binding mechanisms / A. Jäkel, H. Clark, K. B. Reid, R. B. Sim // *Immunobiology*. – 2010. – Vol. 215, № 7. – P. 551–558.
367. The Relationship of HLA-DQ Alleles With Tuberculosis Risk : A Meta-analysis / C. Li, Y. Zhou, X. Xiang [et al.] // *Lung*. – 2015. – Vol. 193, № 4. – P. 521–530.
368. The role and importance of club cells (Clara cells) in the pathogenesis of some respiratory diseases / W. Rokicki, M. Rokicki, J. Wojtacha, A. Dželjijli // *Kardiochir Torakochirurgia Pol.* – 2016. – Vol. 13, № 1. – P. 26–30.
369. The Role of Infection in Miscarriage / S. Giakoumelou, N. Wheelhouse, K. Cuschieri [et al.] // *Hum. Reprod. Update*. – 2016. – Vol. 22, № 1. – P. 116–133.
370. The Roles of the Secreted Phospholipase A 2 Gene Family in Immunology / M. Murakami, K. Yamamoto, Y. Miki [et al.] // *Adv. Immunol.* – 2016. – Vol. 132. – P. 91–134.
371. The SARS coronavirus spike glycoprotein is selectively recognized by lung surfactant protein D and activates macrophages / R. Leth-Larsen, F. Zhong, V. T. Chow [et al.] // *Immunobiology*. – 2007. – Vol. 212, № 3. – P. 201–211. Epub 2007 Jan 26.
372. The therapeutic applications of antimicrobial peptides (AMPs) : a patent review / H. K. Kang, C. Kim, C. H. Seo, Y. Park // *J. Microbiol.* – 2017. – Vol. 55, № 1. – P. 1–12.
373. The utility of special radiological signs on routinely obtained supine anteroposterior chest radiographs for the early recognition of neonatal pneumothorax / M. N. Cizmeci, K. Akin, M K. Kanburoglu [et al.] // *Neonatology*. – 2013. – Vol. 104, № 4. – P. 305–311.
374. Traffic-related air pollution exposure is associated with allergic sensitization, asthma, and poor lung function in middle age / G. Bowatte, C. J. Lodge, L. D. Knibbs [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2017. – Vol. 139, № 1. – P. 122–129.
375. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth / Y. W. Han, T. Shen, P. Chung [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2009. – Vol. 47, № 1. – P. 38–47.

376. Universal testing for group B streptococcus during pregnancy : need for a randomised trial / K. F. Walker, E. Morris, J. Plumb [et al.] // *BJOG*. – 2020. – Vol. 127, № 6. – P. 693.
377. Varespladib inhibits secretory phospholipase A2 in bronchoalveolar lavage of different types of neonatal lung injury / D. De Luca, A. Minucci, J. Trias [et al.] // *J. Clin. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 52, № 5. – P. 729–737.
378. Variants in genes coding for glutathione S-transferases and asthma outcomes in children / S. Turner, B. Francis, N. Wani [et al.] // *Pharmacogenomics*. – 2018. – Vol. 19, № 8. – P. 707–713. doi: 10.2217/pgs-2018-0027.
379. Vertical Transmission of *Mycoplasma pneumoniae* Infection / B. M. Huber, P. M. Meyer Sauter, W. W. J. Unger [et al.] // *Neonatology*. – 2018. – Vol. 114, № 4. – P. 332–336.
380. Vieira, F. Structure, Genetics and Function of The Pulmonary Associated Surfactant Proteins A and D : The Extra-Pulmonary Role of These C Type Lectins / F. Vieira, J. Kung, F. Bhatti // *Ann. Anat.* – 2017. – Vol. 211. – P. 184–201. doi: 10.1016/j.aanat.2017.03.002.
381. Visual and cerebral sequelae of very low birth weight in adolescents / K. Hellgren, A. Hellström, L. Jacobson [et al.] // *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed.* – 2007. – Vol. 92, № 4. – F259–F264.
382. Vulvovaginal Candidiasis in Pregnant Women and its Importance for Candida Colonization of Newborns/ L. Zisova, A. Chokoeva, G. Amaliev [et al.] // *Folia Medica*. – 2016. – Vol. 58, № 2, Article 5. – P. 108–114.
383. Weaver, T. E. Function of surfactant proteins B and C / T. E. Weaver, J. J. Conkright // *Annu. Rev. Physiol.* – 2001. – Vol. 63. – P. 555–578.
384. Welty, S. E. CC10 administration to premature infants : in search of the "silver bullet" to prevent lung inflammation / S. E. Welty // *Pediatr. Res.* – 2005. – Vol. 58, № 1. – P. 7–9.
385. Wright, J. R. Pulmonary surfactant : a front line of lung host defense / J. R. Wright // *J. Clin. Invest.* – 2003. – Vol. 111, № 10. – P. 1453–1455.

386. Zanetti, M. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity / M. Zanetti // J. Leukoc. Biol. – 2004. – Vol. 7