

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Пермский государственный медицинский  
университет им. академика Е.А. Вагнера»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

**КУЛИЖНИКОВ ГРИГОРИЙ ВИКТОРОВИЧ**

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ОЦЕНКИ ТЯЖЕСТИ  
И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИСХОДОВ  
У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ В НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ  
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЛЕКСА БИОМАРКЕРОВ**

14.01.08 – педиатрия

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН,

**Фурман Евгений Григорьевич;**

Научный консультант:  
кандидат медицинских наук, доцент,

**Николенко Андрей Валентинович**

Пермь – 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Введение</b> .....	5
<b>Глава 1. Современный взгляд на роль клинических показателей, биомаркеров и полиморфизмов генов в предикции тяжести состояний у недоношенных детей в неонатальном периоде (обзор литературы)</b> .....	16
1.1. Эпидемиология и структура тяжелых заболеваний у недоношенных детей .....	16
1.2. Анамнестические и клинико-лабораторные факторы риска развития и прогноза течения тяжелых заболеваний у недоношенных детей в неонатальном периоде .....	18
1.3. Общность патогенеза тяжелых заболеваний недоношенных детей .....	24
1.4. Генетические факторы риска (полиморфизмы адренорецепторов и VEGF), ассоциированные с тяжелыми состояниями у недоношенных детей в неонатальном периоде.....	29
1.5. Особенности лабораторной диагностики тяжелых состояний у недоношенных детей .....	34
1.6. Эндотелиальная дисфункция и тяжелые состояния у недоношенных детей в неонатальном периоде .....	40
1.7. Шкалы и методы оценки тяжести, применяемые у недоношенных детей (шкала Апгар, Сильвермана, NEOMOD) .....	46
1.8. Исходы и состояние здоровья недоношенных детей, перенесших тяжелые состояния в неонатальном периоде .....	49
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования</b> .....	52
2.1. Дизайн исследования и клинико-анамнестическая характеристика пациентов .....	52
2.2. Шкалы оценки тяжести (шкала Апгар, Сильвермана, NEOMOD) .....	58
2.3.1 Инструментальное обследование детей в изучаемых группах .....	61
2.3.2. Лабораторная диагностика.....	62
2.3.3. Выделение ДНК методом экстракции фенол-хлороформом из пятен крови, высушенных на фильтровальной бумаге .....	63

2.4. Методы статистической обработки результатов исследования.....	63
<b>Глава 3. Клинико-лабораторные показатели и маркеры эндотелиальной дисфункции у недоношенных детей с тяжелыми состояниями в неонатальном периоде.....</b>	<b>65</b>
3.1. Особенности оценки клинико-лабораторных показателей и результатов инструментального обследования .....	65
3.2. Особенности маркера ангиогенеза VEGF у недоношенных детей с тяжелыми состояниями в неонатальном периоде.....	81
3.3. Состояние эндотелиальной дисфункции у недоношенных детей с тяжелыми состояниями в неонатальном периоде.....	87
<b>Глава 4. Сравнительная оценка полиморфных маркеров генов с особенностями тяжелого состояния в неонатальном периоде у недоношенных детей и женщин с преждевременными родами .....</b>	<b>88</b>
4.1. Оценка полиморфных маркеров генов у женщин, в том числе родивших на ранних сроках .....	88
4.2. Оценка распределения частот аллелей и генотипов генов адренорецепторов ADRA2A, ADRB1, ADRB2 и гена VEGF у детей .....	90
<b>Глава 5. Статистическое моделирование клинико-лабораторных факторов в развитии тяжелого состояния у недоношенных детей в неонатальном периоде.....</b>	<b>99</b>
5.1. Прогностическая модель тяжести состояния, используемая в первые сутки жизни .....	99
5.2. Прогностическая модель тяжести состояния, используемая в третьи сутки жизни .....	102
5.3. Прогнозирование тяжелого состояния у недоношенных детей в неонатальном периоде и летального исхода .....	105
5.4. Клинические примеры .....	106
<b>6. Заключение.....</b>	<b>116</b>
<b>Выводы .....</b>	<b>131</b>
<b>Практические рекомендации .....</b>	<b>133</b>

<b>Перспективы дальнейшего изучения проблемы</b> .....	135
<b>Список сокращений</b> .....	136
<b>Список литературы</b> .....	139
<b>Приложение 1.</b> Расчеты исследований ROC анализа и метода Каплан-Мейера по уровню ИЛ-8 в 1 сутки жизни .....	162
<b>Приложение 2.</b> Расчеты исследований ROC анализа и метода Каплан-Мейера по уровню VEGF в 1, 3 и 7 сутки жизни. Анализ кривой ROC значений VEGF в 1 сутки жизни .....	166
<b>Приложение 3.</b> Расчет значений Хи-квадрата. Сравнительный анализ матерей глубоко недоношенных детей и женщин контрольной группы по наличию полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 .....	176
<b>Приложение 4.</b> Расчетные данные ROC анализа и сравнения кривых ROC для прогностической модели тяжести состояния, используемой в первые сутки жизни .....	177
<b>Приложение 5.</b> Расчетные данные ROC анализа и сравнения кривых ROC для прогностической модели тяжести состояния, используемой в третьи сутки жизни .....	179

## Введение

### *Актуальность темы диссертационного исследования*

Снижение перинатальной смертности и заболеваемости – это важные условия создания положительной демографической ситуации в стране. Актуальной задачей врача является своевременное выявление факторов риска, влияющих на состояние здоровья новорожденных детей. Особое место занимает разработка методов ранней диагностики, профилактики, лечения заболеваний, а также совершенствование выхаживания новорожденных [31].

Ранний неонатальный период (первые 7 суток жизни) является одним из самых опасных периодов в жизни человека, это обусловлено переходом организма ребенка от внутриутробного существования к внеутробному [17]. Во многих работах описано, что тяжелые состояния, возникающие в период новорожденности, формируют у детей предрасположенность к будущим болезням [77, 78]. В связи с тем, что перинатальный период является самым значимым периодом в развитии нервной, иммунной, эндокринной и других систем организма ребенка, тяжелые состояния, перенесенные в период новорожденности, оказывают на организм существенное влияние. Нередко перенесенные критические состояния вызывают необратимые изменения в работе органов [28, 72].

Высокая частота внутриутробного инфицирования новорожденного является актуальной проблемой в современной неонатологии. В структуре перинатальной смертности в Российской Федерации более 40% случаев приходится на внутриутробные заболевания [42]. Внутриутробная среда больше не считается стерильной. Некоторые исследования показывают, что микроорганизмы естественным образом в норме присутствуют во внутриамниотических средах задолго до родов [142]. Младенец может быть инфицирован внутриутробно [120]. По статистике, инфекционный диагноз имеет практически каждый второй новорожденный ребенок, поступающий в отделение реанимации и интенсивной терапии (48% от общего числа) [10]. Неонатальные инфекции являются основной причиной смертности в возрасте до 28 дней [142].

Клинические признаки и симптомы неонатальных инфекций у глубоко недоношенных детей трудно диагностируемы и неспецифичны, в связи с чем точный диагноз остается серьезной проблемой в клинической практике [118]. Тяжелое течение врожденных инфекций часто приводит к вторичному поражению органов и систем, что сопровождается синдромом полиорганной недостаточности (СПОН) [83, 136]. В современных работах активно изучаются полиморфизмы различных генов как маркеры предрасположенности и тяжести инфекции. Особенно актуальным является изучение полиморфизмов генов у беременных женщин, способных указать на высокий риск преждевременных родов и предрасположенность к внутриутробному инфицированию. Известно, что генетический полиморфизм интерлейкина – 1  $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ) повышает вероятность развития сепсиса [185], а наличие полиморфизма гена, кодирующего  $\beta$ 2-адренергический рецептор (ADRB2) у матери повышает риск преждевременных родов и мертворожденности [15].

Глубоко недоношенные дети плохо адаптируются к внеутробному существованию. Преждевременные роды могут быть спровоцированы материнскими причинами, не связанными с внутриутробной инфекцией. В этом случае адаптационные возможности детского организма менее истощены, чем у детей, родившихся с врожденной инфекцией [22, 120]. Имеется прямая связь неблагоприятных исходов у детей с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) при рождении с показателем наличия критических состояний в раннем неонатальном периоде [86]. В настоящее время известно большое количество инфекционно-воспалительных маркеров (С-реактивный протеин (СРП), прокальцитонин (ПКТ), интерлейкин-6 (ИЛ-6), ИЛ-8, пресепсин и другие) с различной чувствительностью и специфичностью, однако идеальный маркер, позволяющий на ранних стадиях диагностировать развитие инфекционного процесса, так и не обнаружен [95]. Лишь в небольшом количестве работ комплексно оценивается прогностическая значимость инфекционно-воспалительных маркеров. В современных условиях актуальной задачей любого

врача-клинициста является быстрая верификация маркеров критических состояний, особенно у детей с ЭНМТ [86].

### *Степень разработанности темы исследования*

Вследствие выраженной морфофункциональной незрелости всех органов, глубоко недоношенные дети плохо адаптируются к внеутробному существованию, чем и обусловлено частое и быстрое развитие критических состояний. В научных работах описана прямая связь неблагоприятных исходов у глубоко недоношенных детей с тяжестью состояния в раннем неонатальном периоде [26].

Интенсивность иммунного ответа у недоношенных новорожденных при врожденных инфекциях зависит от сниженной продукции иммунных факторов, что может быть обусловлено полиморфизмом соответствующих генов [149].

Ген фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) кодирует синтез фактора роста эндотелия, который отвечает за ангиогенез [18] и играет важную роль в патогенезе критического состояния за счет формирования капиллярной утечки [123]. VEGF участвует в формировании многих заболеваний [132, 143]. Комбинации полиморфизмов, в частности VEGF и гена, кодирующего  $\beta$ 1-адренергические рецепторы (ADRB1), могут утяжелять течение патологического процесса [121]. В современных публикациях представлено не так много исследований, которые были бы посвящены поиску комплекса маркеров, с учетом наличия полиморфизмов соответствующих генов, позволяющего своевременно диагностировать и, следовательно, предотвращать развитие неблагоприятных исходов на ранних стадиях патологического процесса у глубоко недоношенных детей. Вышеизложенное явилось основанием для проведения настоящего исследования.

Следует обратить внимание на то, что в настоящее время не предложен универсальный комплекс маркеров (с учетом генетической предрасположенности), позволяющих своевременно диагностировать развитие тяжелых состояний, а, следовательно, и предотвращать неблагоприятные исходы на ранних стадиях патологического процесса у глубоко недоношенных детей.

### ***Гипотезы***

1. Маркеры эндотелиальной дисфункции в комплексе с клинико-лабораторными показателями являются ранними и чувствительными маркерами в диагностике тяжести состояния у новорожденных детей с ЭНМТ и ОНМТ.

2. Наличие полиморфизма гена ADRB2 у матери может влиять на возникновение преждевременных родов, маточно-плацентарный кровоток с возможным формированием гипоксии плода, проявляющейся дисфункцией органов ребенка в раннем неонатальном периоде, а также может наследоваться детьми.

3. Установление предикторной и диагностической ценности комплекса биомаркеров (клинических, лабораторно-инструментальных и полиморфизма генов адренорецепторов) позволит проводить раннюю диагностику заболеваний и осложнений.

### ***Цель исследования***

Определить клинические, лабораторно-инструментальные и генетические биомаркеры прогнозируемой тяжести состояния и летальности у новорожденных детей с ЭНМТ и очень низкой массой тела (ОНМТ).

### ***Задачи исследования***

1. Провести оценку особенностей цитокинового профиля и клинико-лабораторных маркеров неонатальных инфекций у глубоко недоношенных новорожденных детей в тяжелом состоянии в раннем неонатальном периоде на современном методологическом уровне.

2. Определить состояние эндотелия у глубоко недоношенных новорожденных детей, находящихся в тяжелом состоянии, с помощью оценки изменения тонуса сосудов при проведении тепловой пробы с использованием вейвлет-анализа колебаний кожной температуры (БАКТ) и определения VEGF.

3. Оценить частоту полиморфизма генов, кодирующих  $\alpha 2A$ -адренергические рецепторы (ADRA2A) (полиморфизм C-1291G), ADRB1 (полиморфизм Gly389Arg), ADRB2 (полиморфизм Arg16Gly) и гена VEGF

(полиморфизмы C2578A, G634C, C936T) в когорте недоношенных новорожденных с ЭНМТ и ОНМТ, а также определить связи изучаемых полиморфизмов с особенностями течения тяжелого состояния и клинико-лабораторными показателями у недоношенных детей.

4. Сравнить частоту полиморфизмов ADRB2 в когорте женщин, родивших раньше срока детей с ЭНМТ, и женщин, родивших в срок.

5. Установить предикторное значение комплекса биомаркеров (клинических, полиморфизма генов и эндотелиальной дисфункции) при рождении глубоко недоношенных новорожденных детей в прогностической оценке состояния к 7 суткам жизни, а также летальности к концу позднего неонатального периода.

### ***Научная новизна***

С помощью современных лабораторно-инструментальных методов получены новые данные об особенностях цитокинового профиля и клинико-лабораторных маркеров синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) у глубоко недоношенных новорожденных детей в неонатальном периоде, определены закономерности данных маркеров в зависимости от тяжести состояния недоношенных новорожденных, а также установлена их взаимосвязь с тяжестью полиорганной недостаточности, оцениваемой по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни.

Впервые с помощью ВАКТ с проведением тепловой пробы выполнено исследование состояния эндотелия у глубоко недоношенных новорожденных детей, находящихся в тяжелом состоянии в неонатальном периоде.

Впервые изучена и определена клиническая значимость концентрации VEGF в крови в конце раннего неонатального периода (7 сутки жизни) у глубоко недоношенных детей.

Впервые с помощью современных молекулярно-генетических методов изучена частота полиморфизма генов аденорецепторов и VEGF в когорте глубоко недоношенных новорожденных в зависимости от тяжести состояния. Изучены также ассоциации полиморфизма генов аденорецепторов с маркерами

эндотелиальной дисфункции и клинико-лабораторными особенностями тяжелых состояний.

Исследована частота встречаемости и взаимосвязь полиморфизмов адренорецепторов матерей с экспрессией инфекционно-воспалительных маркеров у их детей.

Установленное предикторное значение комплекса биомаркеров позволило разработать диагностический алгоритм определения риска пролонгации тяжелого состояния к концу неонатального периода и летального исхода в неонатальном периоде. Оценка состояния проводится в первые и третьи сутки жизни, что позволяет прогнозировать состояние к седьмым суткам жизни и риск летального исхода у новорожденных детей с ЭНМТ и ОНМТ.

### ***Теоретическая и практическая значимость***

Проведенное исследование продемонстрировало значимость применения молекулярно-генетических методов (ПЦР в режиме реального времени), позволяющих рассмотреть возможность ведения женщин с наличием полиморфизма гена ADRB2 как группу высокого риска преждевременных родов.

На основании полученных данных предложено проводить определение концентрации ИЛ-8 в крови в 1 сутки жизни, что позволяет выявить детей высокого риска летального исхода в когорте глубоко недоношенных новорожденных.

На основании результатов, полученных в исследовании, были предложены уравнения множественной регрессии (далее – Модель риска), для первых и третьих суток жизни, позволяющие выявить высокий риск сохранения тяжелого состояния к концу раннего неонатального периода и летального исхода. Ценность уравнений множественной регрессии заключается в доступности исходных данных и легкости проведения оценки.

Решение вопроса прогнозирования динамики состояния в первые и третьи сутки жизни может позволить своевременно провести дополнительное обследование для уточнения диагноза и вести таких детей как пациентов высокого риска летального исхода. В частности, дополнительное обследование и

назначение адекватной антибактериальной терапии в когорте глубоко недоношенных детей с высоким риском летального исхода может позволить снизить летальность.

### ***Методология и методы исследования***

При выполнении настоящей работы были изучены и проанализированы данные отечественной и иностранной научной литературы, касающиеся клиничко-анамнестических, лабораторных, инструментальных и генетических факторов риска формирования тяжелого состояния у глубоко недоношенных детей в неонатальном периоде.

Методология исследования включала комплексную оценку данных анамнеза, инфекционно-воспалительных маркеров и генетических полиморфизмов, клинических, инструментальных и лабораторных данных в контрольные точки: 1-е, 3-е, 7-е и 28-е сутки жизни у детей с ЭНМТ и ОНМТ при рождении. Для создания диагностического алгоритма и персонифицированного подхода в оценке прогностической ценности маркеров изучалось влияние генетических факторов на тяжесть состояния в исследуемых группах детей.

Исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины (отбор больных и статистическая обработка результатов). Работа выполнена в дизайне сплошного продольного сравнительного проспективного межпредметного исследования. Применялись современные лабораторные, инструментальные, биохимические и генетические методы исследования. Использовались современные методы статистического анализа с учетом задач и методов настоящего исследования.

### ***Основные положения, выносимые на защиту***

1. Обнаружена связь течения тяжелого состояния с клиничко-лабораторными показателями и биомаркерами: концентрация ИЛ-8 в 1 сутки жизни и уровень маркера ангиогенеза VEGF на 7 сутки жизни могут быть использованы в выявлении высокого риска неблагоприятного исхода в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) у глубоко недоношенных детей.

2. Измерения амплитуд колебаний кожной температуры в эндотелиальном диапазоне регуляции микроциркуляции методом ВАКТ на 7 сутки жизни позволяет заподозрить наличие эндотелиальной дисфункции, которая является маркерами тяжести состояния.

3. Установлена связь полиморфных вариантов генов адренорецепторов и VEGF у глубоко недоношенных детей с клинико-лабораторными показателями, а также полиморфизма гена ADRB2 у матери на состояние мочевыделительной системы новорожденного в раннем неонатальном периоде.

4. Отмечается разнонаправленная частота встречаемости полиморфных вариантов генов ADRA2A, ADRB1, ADRB2, VEGF в группах обследованных глубоко недоношенных детей, при этом частота полиморфизма гена ADRB2 у матерей, имеющих преждевременные роды, выше, чем у глубоко недоношенных детей, и выше, чем у матерей контрольной группы.

5. Разработанная Модель риска может быть использована в первые и третьи сутки жизни для уточнения прогноза.

### ***Степень достоверности результатов***

Обследован 41 ребенок, при этом у каждого ребенка проанализирован 241 показатель. Изучаемые показатели включали: данные анамнеза, общеклинические показатели, данные общего анализа крови, биохимического исследования крови, ИФА (VEGF, MCP-1, ИЛ-6, ИЛ-8), КЩС, общего анализа мочи, амплитуды колебаний кожной температуры в эндотелиальном, нейrogenном и миогенном диапазонах регуляции микроциркуляции методом вейвлет-анализа в условиях тепловой пробы, наличие полиморфизмов генов (ADRA2A, ADRB1, ADRB2, VEGF) у детей и наличие полиморфизмов генов ADRB2 у матерей. В исследовании приняло участие 26 детей с ЭНМТ и 15 детей с ОНМТ. Выборка включала 24 выживших ребенка с тяжестью состояния по шкале неонатальной полиорганной дисфункции (NEOMOD) на 7 сутки – от 0 до 2 баллов, 9 выживших детей с оценкой по шкале NEOMOD – 3 и более баллов, 8 детей с последующим летальным исходом. В основу исследования положена идея многофакторного влияния инфекционно-воспалительных процессов с учетом генетических

факторов на динамику тяжести состояния. Влияние каждого маркера проверялось отдельно и с учетом других, использовались специальные методы статистического анализа. Для решения поставленных задач применялся комплексный методологический подход с использованием современных клинических, инструментальных, биохимических и генетических методов исследования, соответствующего сертифицированного медицинского оборудования, компьютерных технологий. Достоверность результатов диссертационной работы определяется использованием современных методов статистической обработки полученных данных. Статистическая обработка проводилась с помощью встроенного пакета анализа программы Excel® 2016 MSO, авторского (© В.С. Шелудько, 2001–2016) пакета прикладных электронных таблиц «Stat2015». Отдельные расчеты проводились в программе MedCalc® 15.8 Portable.

#### ***Соответствие диссертации паспорту научной специальности***

Диссертационное исследование соответствует формуле специальности 14.01.08 – Педиатрия. Педиатрия является отраслью медицинских наук.

Формула специальности «Педиатрия» – это область клинической медицины, изучающая физиологию и патологию детского возраста, а также разрабатывающая методы диагностики и профилактики детских болезней.

Согласно паспорту научной специальности «Педиатрия», областью данного исследования является:

1. Состояние функциональных систем ребенка.
2. Физиология и патология детей периода новорожденности.
3. Клиника и диагностика врожденных болезней.
4. Внутренние болезни у детей.
5. Интенсивная терапия и реанимация.

#### ***Апробация результатов исследования***

Материалы диссертации доложены и обсуждены на VI Евро-Азиатском неонатальном форуме (Екатеринбург, с 15 по 17 апреля 2019 года), на XIII

Всероссийском образовательном конгрессе «Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии» (Москва, с 23 по 25 ноября 2020 года).

Работа выполнена при поддержке «Российского фонда фундаментальных исследований» в рамках научного проекта № 19-315-90115 «Предикторное значение комплекса биомаркеров в оценке тяжести критических состояний у недоношенных детей в неонатальном периоде».

### ***Внедрение результатов работы в практику***

Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедре анестезиологии, реаниматологии и скорой медицинской помощи, на кафедре факультетской и госпитальной педиатрии Пермского государственного медицинского университета Е.А. Вагнера Министерства здравоохранения Российской Федерации.

На основании результатов исследования представлены Модели риска, позволяющие прогнозировать тяжесть состояния и летальный исход у глубоко недоношенных детей.

Результаты диссертационного исследования по прогнозированию динамики тяжести состояния у глубоко недоношенных новорожденных детей внедрены в практику работы ОРИТ в Перинатальном центре государственного бюджетного учреждения здравоохранения (ГБУЗ) Пермского края «Ордена Знак Почета» «Пермская краевая клиническая больница».

### ***Личный вклад автора***

Автором самостоятельно проведен отбор пациентов для включения в исследование, анамнестическое и клинико-лабораторное обследование детей, их матерей и женщин контрольной группы; инструментальное обследование детей на приборе «Микротест»; сбор материала для проведения биохимического и генетического исследования; динамическое наблюдение в контрольных точках исследования; проведение иммуноферментного анализа (ИФА) (VEGF, моноцитарного хемотаксического протеина (MCP-1), ИЛ-6, ИЛ-8); сбор и обобщение клинического материала; создание электронной базы данных

исследуемых пациентов; статистический анализ и интерпретация полученных результатов; разработка диагностического алгоритма, подготовка публикаций по теме исследования.

### ***Публикации по теме работы***

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ, из них 3 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых высшей аттестационной комиссией.

### ***Объем и структура диссертации***

Диссертация изложена на 161 странице машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 193 источника, из них 90 отечественных и 103 – зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 29 таблицами и 27 рисунками.

# **Глава 1. Современный взгляд на роль клинических показателей, биомаркеров и полиморфизмов генов в предикции тяжести состояний у недоношенных детей в неонатальном периоде (обзор литературы)**

## **1.1. Эпидемиология и структура тяжелых заболеваний у недоношенных детей**

Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения, дети, рожденные на сроках гестации от 22 до 27 недель и имеющие массу тела менее 1000 граммов, входят в группу новорожденных с ЭНМТ, а дети, рожденные на сроках гестации от 28 до 32 недель с массой менее 1500 граммов, входят в группу ОНМТ [75].

Глубоко недоношенные дети – это категория детей с самой высокой младенческой летальностью. В Великобритании выживаемость детей, рожденных в 22 недели гестационного возраста, составляет 1%, в 23 недели – 11%, в 24 недели – 26% и на 25 неделе – 44% [75]. В США выживаемость детей в сроке гестации более 26 недель составляет 70%, а в сроке 22–24 недели всего 13% [151]. В Италии дети с ЭНМТ при рождении выживают в 76% случаев [182]. В Японии данных о выживаемости глубоко недоношенных новорожденных менее 1000 граммов практически нет. Однако японские авторы свидетельствуют, что среди детей с массой тела менее 1500 граммов выживает около 90% [148].

В России в последнее десятилетие благодаря внедрению в практику новых высокоэффективных медицинских технологий удалось значительно увеличить выживаемость детей с ЭНМТ и ОНМТ при рождении. Повышение выживаемости достигнуто преимущественно у детей, родившихся после 27 недель гестации. Наибольшая летальность наблюдается у детей, родившихся на сроке гестации менее 24 недель [14, 45].

Причины преждевременных родов различны, основными из них считают инфекции, тромбофилические состояния, экстрагенитальную патологию матери [145]. По мнению современных исследователей, высокая частота преждевременных родов обусловлена развитием внутриутробного инфицирования плода. При врожденной инфекции патоморфологические

изменения в головном мозге начинают формироваться в пренатальном периоде [48]. Считается, что основной причиной родов на сроке 22–27 недель является инфекционная патология, на сроке 28–33 недели она составляет 50% из всех причин, провоцирующих роды, а на сроке более 34 недель причины преждевременных родов часто бывают другие, не связанные с инфекционной патологией [45, 75], например, гипоксия. Гипоксия во внутриутробном периоде наносит вред всем органам и системам плода. В настоящее время гипоксию рассматривают как универсальный повреждающий фактор, влияющий на функции сердечно-сосудистой, бронхолегочной, эндокринной, мочевыделительной, иммунной систем, желудочно-кишечного тракта и метаболических процессов [9].

Основными причинами развития тяжелых состояний у новорожденных детей, способными привести к инвалидизации и гибели, являются инфекция и гипоксия, которые приводят к перинатальному поражению центральной нервной системы (ППЦНС) (внутрижелудочковое кровоизлияние (ВЖК) 3-4-й степени, кистозная перивентрикулярная лейкомаляция (ПВЛ)), дыхательной системы (респираторный дистресс-синдром (РДС), бронхолегочная дисплазия, пневмония), сердечно-сосудистой системы (открытый артериальный проток) и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (некротический энтероколит (НЭК)) [75, 144, 181].

Самой частой причиной ППЦНС у недоношенных детей является гипоксия [133]. В настоящее время интенсивно изучаются метаболические нарушения, возникающие вследствие гипоксии, которые запускают патологические звенья патогенеза развития ППЦНС [83].

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно по всему миру рождаются миллионы недоношенных новорожденных. РДС, известный ранее как болезнь гиалиновых мембран, – тяжелое заболевание, которое часто встречается у глубоко недоношенных детей [103, 122]. Частота развития РДС у детей зависит от гестационного возраста, в возрасте до 28 недель – 60–80%, 32–36 недель – 15–30%, а у детей в возрасте 36 недель – 5% [103]. Несмотря на существующее лечение и поддерживающие меры, болезнь является

причиной 50% летальных исходов в структуре всей неонатальной смертности у детей с ЭНМТ [176]. У детей с ЭНМТ частота встречаемости РДС составляет 37,5%, а бронхолегочной дисплазии (БЛД) – 13,5% [34]. Частота встречаемости БЛД у недоношенных детей со сроком гестации до 28 недель в 3 раза больше, чем у детей с гестационным сроком 29–33 недели [57].

В Российской Федерации частота развития госпитальных инфекций у детей с ЭНМТ и ОНМТ при рождении составляет 20–45%. Частота развития внутрибольничных инфекций зависит от степени сформированности механизмов иммунной защиты, а следовательно, у глубоко недоношенных детей наличие ЭНМТ и ОНМТ при рождении может косвенно указывать на незрелость органов и систем, в том числе и иммунной, что в свою очередь выявляет предрасположенность к быстрому и более тяжелому течению инфекции [40].

В связи с тем, что глубоко недоношенные дети часто нуждаются в искусственной вентиляции легких (ИВЛ), у них повышается риск развития госпитальных инфекций, например, таких как ИВЛ-ассоциированная пневмония [185], а развитие госпитальных инфекций значительно утяжеляет состояние и ухудшает прогноз для глубоко недоношенного ребенка [75]. Уровень летальности при ИВЛ-ассоциированной пневмонии составляет 20–71% [189].

В современных исследованиях метаболические нарушения и активация анаэробного дыхания изучаются как ранние маркеры тяжелых состояний, вызванных инфекционным процессом. Авторы данных работ указывают, что оценка метаболических процессов на клеточном и органном уровнях могут быть диагностически значимыми для предотвращения развития СПОН и гибели пациента [83].

## **1.2. Анамнестические и клиничко-лабораторные факторы риска развития и прогноза течения тяжелых заболеваний у недоношенных детей в неонатальном периоде**

Факторы риска развития тяжелых состояний у глубоко недоношенных детей можно разделить на пренатальные, натальные и постнатальные. Изучая факторы

риска развития тяжелых состояний, авторы в первую очередь обращают внимание на факторы, повышающие риск развития инфекционных процессов. В исследованиях выделяют две возможные причины высокой частоты развития генерализованных инфекционных процессов: во-первых, все недоношенные дети имеют выраженную незрелость иммунной системы, чем обусловлено несовершенство ее функций [115], во-вторых, недоношенным детям часто требуется проведение инвазивных процедур, необходим внутривенный доступ, эндотрахеальная интубация [119].

В последние годы сформировалось комплексное понимание развития иммунной системы новорожденных. При рождении на сроке до 32 недель новорожденные дети считаются иммунологически незрелыми [142]. Врожденная иммунная система считается первой линией обороны. Клетки врожденной иммунной системы состоят главным образом из миелоидных клеток, таких как макрофаги, нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, моноциты и лимфоидные клетки [126]. Состав миелоидных клеток хорошо изучен на протяжении всей беременности. Нейтрофилы играют очень важную роль в защите новорожденных от инфекций. Однако до 32 недель они составляют очень низкий процент клеток крови [128]. У недоношенных новорожденных нейтрофилы не обладают способностью формировать нейтрофильные внеклеточные ловушки. Эти ловушки представляют собой нити внеклеточной ДНК, хроматина и антибактериальных белков, которые уничтожают микроорганизмы через генерацию активных форм кислорода [142]. Как и другие типы иммунных клеток, моноциты распознают антигены. Изучены три основные моноцитарные подмножества клеток в соответствии с их экспрессией моноцитарных поверхностных маркеров (мембранный гликозилфосфатидилинозитол-связанный белок 14 (CD14) и CD16). До 29 недель гестации большинство моноцитов плода имеют незрелый фенотип, характеризующийся низкой экспрессией маркера CD14. Эти моноциты активно участвуют в ремоделировании тканей, а в иммунных реакциях они малоактивны [138]. Изучение особенностей активности моноцитов объясняет некоторые причины преобладания определенных возбудителей в этиологии инфекционных

процессов у глубоко недоношенных детей. Например, активность толл-подобного рецептора 2 (TLR<sub>2</sub>) моноцитов, которая играет преобладающую роль в распознавании коагулазонегативных стафилококков, заметна на поздних сроках гестации. Соответственно, инфекции с этим патогеном наиболее часто встречаются у детей с гестационным возрастом менее 30 недель [171]. Однако у недоношенных новорожденных до 29 недель гестации моноциты и дендритные клетки продуцируют низкие количества ИЛ-17-поляризующих цитокинов неонатальными антигенпрезентирующими клетками, что повышает риск возникновения инфекций желудочно-кишечного тракта [166].

Важное значение в формировании иммунитета у глубоко недоношенных детей имеет грудное молоко. В современных работах опубликованы наблюдения, касающиеся клеточного состава и наличия антимикробных пептидов в грудном молоке. Эти данные объясняют иммунные свойства грудного молока и влияние его на созревание иммунной системы. Основная клиническая значимость этих результатов заключается в том, что грудное молоко может быть использовано для защиты от неонатального сепсиса, в том числе НЭК как части сепсиса. Так, например, в исследованиях было неоднократно доказано, что прием грудного молока, в отличие от молочной смеси, достоверно снижает частоту развития НЭК у недоношенных детей [98]. В современных исследованиях доказано, что кишечник сам относится к функционально обособленным иммунным органам [168].

Известно, что на функцию иммунной системы также большое влияние оказывают гормоны, в частности гормоны щитовидной железы [115]. Глубоко недоношенные новорожденные дети имеют незрелость регуляции гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы. Обнаружено, что при низком уровне трийодтиронина и тироксина у детей, находящихся в критическом состоянии, значительно повышается риск неблагоприятного прогноза вследствие развития неонатального сепсиса [175].

Одними из ведущих пренатальных причин заболеваемости и смертности детей с ЭНМТ и ОНМТ в раннем неонатальном периоде являются инфекционные

болезни матери [75]. Инфекционно-воспалительный процесс в полости амниона может проникать в стенку пупочного канатика и систему фетальной циркуляции. Особенности хода пупочных сосудов приводят к повреждению легочного эндотелия и легочной ткани плода [64]. В своей работе А. Patra с соавторами описал, что у 65% женщин, родоразрешенных на сроке 23–24 недели, гистологически обнаружены признаки хориоамнионита в плаценте, а на сроке 29 недель – у 30% женщин. В связи с чем авторами был сделан вывод, что хориоамнионит у матери, диагностируемый клинически или гистологически, является важной причиной преждевременных родов [153].

Хориоамнионит – это один из основных факторов риска неонатального сепсиса. Хориоамнионит может вызывать выраженные иммунные реакции у плода, вплоть до «иммунного паралича», что приводит к более тяжелому течению инфекционного процесса [142]. Причиной раннего неонатального сепсиса, как правило, являются бактерии материнской мочеполовой системы. Младенец может быть инфицирован внутриутробно. Наиболее распространенными возбудителями раннего неонатального сепсиса являются *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Proteus mirabilis*, *Haemophilus influenzae* и *Listeria monocytogenes* [111, 142]. При внутриутробном инфицировании плода таким возбудителем, как *Listeria monocytogenes*, беременность может закончиться самопроизвольным выкидышем или родами на раннем сроке [142].

При преждевременном разрыве околоплодных оболочек бактерии могут проникнуть в околоплодные воды, плаценту через шейку матки [120]. Аномалии микробиота плаценты являются одной из причин преждевременных родов и развития критических состояний у новорожденных детей [142].

При рождении детей через естественные родовые пути во время рождения происходит колонизация новорожденных детей материнской вагинальной, кишечной и кожной флорой. Что касается недоношенных детей, то почти половина из них рождается путем кесарева сечения, это оказывает влияние на вид бактерий, колонизирующих кожу и слизистые новорожденных. У глубоко недоношенных детей, попадающих в отделения реанимации, слизистые и

эпидермальные поверхности колонизируются нозокомиальными микроорганизмами, так как не произошла колонизация материнской флорой при прохождении через родовые пути [142].

Недоношенные дети подвержены риску длительного воздействия антибиотиков, что может еще больше нарушить нормальную колонизацию. Нарушение нормальной микробиоты антибиотиками широкого спектра действия повышает риск развития инфекционных заболеваний, вплоть до неонатального сепсиса [142]. Кроме того, подавляющее большинство младенцев, рожденных с малым гестационным возрастом, подвергается воздействию кортикостероидов (иммуносупрессивного препарата), которые назначаются беременным матерям для улучшения созревания сурфактанта в легких плода. Все это усложняет дифференциальную диагностику первичного или вторичного иммунодефицитного состояния у данной группы детей. Однако проведенный многофакторный статистический анализ иммунных реакций у этих детей свидетельствует об отсутствии значимого влияния экзогенных перинатальных факторов на состояние иммунитета [134].

В структуре неонатальной смертности внутриутробные инфекции являются причиной смерти недоношенных новорожденных в 68% случаев [67]. В современных исследованиях описано, что у недоношенных детей при любой форме системного воспаления вследствие инфекционных процессов, таких как сепсис, менингит и НЭК, существенно повышался риск ППЦНС [153]. Также дети с малым гестационным сроком в силу морфофункциональной незрелости центральной нервной системы (ЦНС), в частности, незрелостью цереброваскулярной ауторегуляции, имеют предрасположенность к острой интранатальной асфиксии, уменьшению активности антиоксидантных систем, дефициту энергии [9]. Высокая чувствительность развивающегося мозга глубоко недоношенных детей к повреждениям, вызванным воспалительными, гипоксически-ишемическими и метаболическими процессами, в перинатальном периоде является одним из основных факторов развития тяжелых состояний, обусловленных повреждением ЦНС [153].

В настоящее время активно изучается использование различных биологических маркеров в прогнозировании тяжести состояний, обусловленных как внутриутробными инфекциями, так и гипоксически-ишемическим поражением ЦНС [67].

Особенностью паравентрикулярной зоны глубоко недоношенных детей является ее богатая васкуляризованность. Вследствие незрелости сосудисто-капиллярной сети, отсутствия механической поддержки сосудов, отмечается высокая чувствительность капилляров к изменениям давления и местной гипоксии, что приводит к субэпендимальным кровоизлияниям, которые могут приводить к прорыву крови в боковые желудочки головного мозга [104]. Обильная капиллярная сеть паравентрикулярной зоны обеспечивает миграцию нейрональных предшественников в ряд зон головного мозга. Внутриутробная гипоксия нарушает процессы клеточной дифференцировки и процесс миграции в паравентрикулярной зоне, а преждевременные роды усугубляют нарушения нейрогенеза [48].

Неблагоприятные факторы антенатального периода приводят к повреждению эритроцитов и истощению адаптационных резервов, а короткое время жизни эритроцитов предрасполагает к развитию анемии у глубоко недоношенных детей. Основными причинами развития анемии у недоношенных детей после рождения являются укорочение периода жизни эритроцитов, частый забор крови для анализов при стационарном лечении, а в более поздних сроках неадекватная продукция эритропоэтина, дефицит железа и фолиевой кислоты (к 2 месяцам жизни). Этиологическим фактором анемии у глубоко недоношенных новорожденных детей, выявленной при рождении, чаще всего является кровопотеря. К основным причинам кровопотери у новорожденных относят: кровопотеря в процессе родоразрешения, фетоплацентарное кровотечение, межблизнецовая трансфузия [62, 69, 90]. Нестабильное и тяжелое состояние глубоко недоношенных детей сохраняет необходимость исследовать маркеры инфекционно-воспалительных процессов (общеклинические анализы), что сопровождается частыми заборами крови. Такие анализы сопровождаются

небольшими по объему, но регулярными эпизодами кровопотери в результате заборов крови для лабораторных исследований, за неделю объем забранной крови может достигать 40 мл [70]. У детей с ЭНМТ такое обследование может привести к развитию тяжелой анемии, в связи с чем потребуется проведение гемотрансфузии. Анемия представляет угрозу для здоровья глубоко недоношенных детей, а гемотрансфузии могут приводить к увеличению риска развития ретинопатии недоношенных, бронхолегочной дисплазии, НЭК, ВЖК в связи с резким повышением окислительных процессов в организме новорожденного в ответ на гемотрансфузию [33, 61, 169]. С целью профилактики развития ВЖК у глубоко недоношенных детей используют комплекс лечебных мероприятий, в том числе охранительный режим и профилактика анемии путем минимизации заборов крови [33]. Однако не всегда возможно уменьшить количество анализов, так как каждый час задержки антибактериальной терапии увеличивает вероятность летального исхода на 7 процентов. Точный прогноз возникновения болезни и раннее назначение адекватной антибактериальной терапии может снизить вероятность развития СПОН и летальности [43]. В периоде новорожденности инфекционная патология имеет неспецифические клинические проявления, что может приводить к затруднению в интерпретации симптомов и поздней диагностике заболевания [25].

Современные научные работы направлены на поиск новых маркеров и методик, позволяющих проводить раннюю диагностику патологических состояний с целью уменьшения инвазивных манипуляций во время скринингового обследования. Особый интерес вызывают новые неинвазивные методы.

### **1.3. Общность патогенеза тяжелых заболеваний недоношенных детей**

У глубоко недоношенных детей в неонатальном периоде имеется ряд анатомо-физиологических особенностей, способных приводить к нарушениям систем и органов, к развитию митохондриальной недостаточности. К таким анатомо-физиологическим особенностям относятся: рассыпной тип коронарных артерий, гиперкатехоламинемия, физиологическая карнитиновая

недостаточность. Гиперкатехоламинемия приводит к повышению тонуса артериол и тенденции к гипертензии. Адекватность фетального кровообращения зависит от открытого артериального протока (ОАП). Даже в идеальных условиях открытие малого круга кровообращения является избыточной нагрузкой для сердца глубоко недоношенного ребенка, что приводит к длительному сохранению ОАП; в результате чего нарушается кровообращение во всех тканях, возникают расстройства мозгового кровообращения и, как следствие, развиваются дисфункции органов и систем [53]. Длительно функционирующий артериальный проток у глубоко недоношенных детей с гемодинамически значимым сбросом может приводить к развитию целого ряда гемодинамических нарушений, которые сопровождаются развитием тяжелых состояний. Гемодинамически значимый ОАП у недоношенных новорожденных может привести к развитию легочного кровотечения и утяжелению течения РДС. Самыми опасными осложнениями гемодинамически значимого ОАП являются НЭК и ВЖК. Критические состояния у детей с ЭНМТ в большинстве случаев обусловлены действием функционирующего ОАП [7].

Известно, что патологические процессы в различных органах и системах организма глубоко недоношенных детей характеризуются стремительным утяжелением состояния и развитием полиорганных дисфункций [56]. Клиническое ухудшение состояния является результатом влияния воспалительных процессов, что приводит к формированию органных дисфункций. Дисфункция органа начинается с повреждения эндотелия сосудов, что приводит к повышению проницаемости сосудов, активируются процессы, приводящие к повышению свертываемости крови, в связи с этим нарушается региональная перфузия в различных органах, таких как почки, печень, кишечник и прочие [123]. В своей работе В.А. Анзоров, С.В. Морякина (2017) обнаружили статистическую взаимосвязь низкого уровня креатинина с низкой концентрацией белка в крови. Среди причин развития гипопропротеинемии на фоне адекватной дотации белка можно выделить потери белка с биологическими жидкостями, снижение синтеза белка в печени и дисфункцию ЖКТ, вследствие которой

снижается поступление протеинов из желудочно-кишечного тракта [4]. Однако увеличение белковой нагрузки парентерально может повлиять на работу незрелых почек. Повреждение и дисфункция почек, сопровождающаяся протеинурией, это частое проявление полиорганной недостаточности вследствие чрезмерной активации синдрома системного воспалительного ответа.

Недостаточная эффективность лечебно-профилактических мероприятий у глубоко недоношенных новорожденных детей быстро приводит к нарастанию тканевой гипоксии и смешанному ацидозу. Основную роль в нарушении гомеостаза играет снижение парцельного давления кислорода в микроциркуляторном русле, проявляющееся в различной степени у всех недоношенных детей в тяжелом состоянии. Тканевую гипоксию может вызывать как дыхательная недостаточность, так и снижение сердечного выброса, уменьшение объема циркулирующей крови, нарушение микроциркуляции [35]. Значимым звеном в патогенезе СПОН является активация ССВО и развитие эндотелиальной дисфункции вследствие нарушения в эндотелиальных клетках функций митохондрий, в частности, снабжения клетки энергией [83, 136]. Энергопродуцирующими клеточными органеллами являются митохондрии. В нормальных условиях организм получает энергию, активируя три взаимосвязанных пути: цикл Кребса, гликолиз в цитоплазме и цепь транспорта электронов в митохондриях. Основной причиной развития гипоксии является нарушение субстратного звена в дыхательной цепи митохондрий. При гипоксии в дыхательной цепи митохондрий нарушается возможность поглощения водорода от иных субстратов, кроме янтарной кислоты. Причиной клеточных расстройств всегда является дефицит энергии, синтез которой происходит в митохондриях при непосредственном участии кислорода. Замедление митохондриального синтеза энергии приводит к нарушению всего обмена веществ в органелле. Этот процесс принято называть «митохондриальная дисфункция», которая лежит в основе эндотелиальной дисфункции. Митохондрии способны активировать гипоксический каскад биохимических процессов, что приводит к гибели клетки путем активации механизмов апоптоза. В современных работах

«митохондриальная дисфункция» рассматривается как один из основных патогенетических процессов, приводящих к развитию тяжелых состояний [83].

Имеются работы, описывающие влияние окислительного стресса в формировании РДС. Окислительным стрессом принято называть процесс повреждения клетки в результате преобладания окислительных процессов над восстановительными. Окислительный стресс относится к функциональному нарушению способности сохранять равновесие между образованием свободных радикалов и способностью организма нейтрализовать их. Он может быть физиологическим по своей природе (окислительный эустресс), необходимым для активации специфических метаболических процессов, и патологическим (окислительный дистресс), который вызывает повреждение клеточных структур свободными радикалами и нарушает функцию биологических систем. Окислительное повреждение наиболее сильно нарушает работу внутренних органов у глубоко недоношенных детей вследствие незрелости функции антиоксидантной системы, повышенной продукции активных форм кислорода и высокого уровня свободного железа крови. В итоге окислительное повреждение у недоношенных новорожденных приводит к поражению легочной ткани с формированием РДС [172].

По значимости повреждающего постнатального воздействия на ЦНС на первое место выходит гипоксическое повреждение головного мозга вследствие РДС. ППЦНС всегда носит вторичный характер. РДС, ранее называемый болезнью гиалиновых мембран, является самым распространенным респираторным расстройством у недоношенных детей [172]. РДС является наиболее частой причиной развития тяжелых состояний у глубоко недоношенных новорожденных. В связи с глубокой незрелостью легких, вследствие чего отмечается выраженный дефицит поверхностно-активного вещества сурфактанта, развивается тяжелая дыхательная недостаточность. Дефицит сурфактанта является одной из основных причин патологического процесса и летальности младенцев [103]. Дефицит сурфактанта – это основная причина развития РДС у глубоко недоношенных детей [172]. Респираторная патология у глубоко

недоношенных детей – это одна из основных причин развития тяжелых состояний. Однако интерпретация данных рентгенографии органов грудной клетки у глубоко недоношенных детей при патологии легких в первые сутки жизни может быть затруднительна вследствие анатомо-физиологических особенностей дыхательной и сердечно-сосудистой системы после рождения ребенка [25].

Критические состояния, возникшие вследствие поражений ЦНС у недоношенных детей, таких как тяжелое ВЖК или геморрагический паренхиматозный инфаркт, приводят к дополнительным нарушениям ремоделирования в развивающемся мозге, что в свою очередь значительно утяжеляет состояние пациента за счет нейродинамических нарушений [92]. Системное воспаление, развившееся на любой повреждающий фактор, стимулирует образование каскада провоспалительных цитокинов, локальную активацию микроглии в головном мозге в ответ на свободнорадикальную атаку активных форм кислорода и азота, что в свою очередь приводит к некрозу и запуску механизма апоптоза в нервных клетках [153].

В своей работе J.B. Helderман (2010) с соавторами описал, что у недоношенных детей сепсис без признаков менингита может приводить к повреждению белого вещества головного мозга, а также может приводить к функциональным нарушениям работы головного мозга, зафиксированным на электроэнцефалограмме [173].

Госпитальные инфекции могут контаминировать младенца при проведении инвазивных манипуляций. В частности, ИВЛ-ассоциированные пневмонии возникают за счет контаминации патологическими микроорганизмами дыхательных путей вследствие устранения защитных механизмов верхних дыхательных путей интубацией трахеи [157]. ИВЛ-индуцированное повреждение легких, включая легочную баротравму и волюмотравму, ателектаз и биотравму легких, также повышает риск развития ИВЛ-ассоциированной пневмонии [141].

В случае наличия врожденных пороков сердца (ВПС) у глубоко недоношенного новорожденного прогноз зависит от пренатальной диагностики

пороков и своевременной кардиохирургической помощи. Каждый третий ребенок с ВПС рождается в тяжелом состоянии [3].

#### **1.4. Генетические факторы риска (полиморфизмы аднерорецепторов и VEGF), ассоциированные с тяжелыми состояниями у недоношенных детей в неонатальном периоде**

В современной научной литературе описано более 1,5 тысяч различных генетических дефектов, способных оказывать прямое или опосредованное влияние на состояние органов и систем. Большая часть исследований, изучающих влияние полиморфизмов генов на развитие патологических состояний, проведено на взрослых пациентах. В частности, к мутациям, влияющим на свертывающую систему человека, относятся: мутация гена протромбина – FII (20210 G/A), фактора V (Arg506Gln или мутация FV Leiden), MTHFR (Ala222Val), PAI-1 (675 4G/5G), тромбоцитарного гликопротеида – GpIIIa (Leu33Pro), а также полиморфизмы генов коагуляционных факторов FXII C46T, FVII G10976A, FXI C22771T, PLAT C7351T, MTHFR [6]. Мутации Alu Ins/Del ангиотензинпревращающего фермента и мутации T704C (Met235Thr) по гену ангиотензиногена указывают на высокую предрасположенность к формированию хронической почечной недостаточности, а наличие полиморфизма по гену AGT (аллель С) значительно увеличивает риск развития нефропатии [5]. Известно, что аллель G в интроне AQP5 rs3736309 предрасполагает развитие более тяжелого состояния у реанимационных пациентов, что проявляется быстрым развитием полиорганной недостаточности [60], а сочетание генетического маркера TLR<sub>9</sub> (TLR<sub>9</sub> CC) и повышенного содержания циркулирующей свободной ДНК в плазме указывает на высокий риск летальности в течение 30 дней пациентов в ОРИТ [39].

В настоящее время для скрининга мутаций используются различные методы, включающие выявление полиморфизма длины рестрикционного фрагмента, амплификационную рефрактерную мутационную систему, денатурирующую высокоэффективную жидкостную хроматографию,

количественный ПЦР-анализ системы рефрактерных мутаций амплификации в реальном времени и пиросеквенирование. Однако большинство из этих методов являются трудно исполнимыми и требуют большого количества времени для выявления нескольких генов. В настоящее время «золотым стандартом» анализа вариаций последовательности является прямое секвенирование, но оно остается дорогостоящим и трудоемким [155].

Генетическим полиморфизмом принято считать разные вариации генов. При наличии полиморфизма гена происходит изменение свойств и структуры кодирующих данным геном белков. Генетическим полиморфизмом называется замена, дупликация, вставки, выпадения или повторения нуклеотидов. Он может быть количественным или качественным. Некоторые полиморфизмы встречаются часто, а другие гораздо реже. Принципиальным отличием полиморфизма от мутации является частота встречаемости. Полиморфизмом считаются генетические варианты с частотой аллелей более 1%, а мутацией – менее 1%. Также генетический полиморфизм может влиять на функцию фермента или рецептора, что может быть выгодным, нейтральным или негативным для организма [20]. Известно, что гомозигота по полиморфному аллелю, *in vitro*, снижает активность фермента или рецептора, который кодируется таким геном на 70%, а гетерозигота – до 35% [85].

Современные исследования подтверждают факт влияния полиморфизмов некоторых генов у детей на развитие серьезных осложнений преждевременных родов, таких как РДС, бронхолегочная дисплазия, внутрижелудочковое кровоизлияние и ретинопатия [129].

Адренорецепторами называются рецепторы, реагирующие на адренэргические вещества. Все адренорецепторы относятся к G-белковым рецепторам, их еще называют серпантинные рецепторы. Функцией таких рецепторов является активация внутриклеточных путей передачи сигнала, что лежит в основе клеточного ответа. Адренорецепторы различаются по локализации, эффектам в ответ на их стимуляцию, а также по активирующим их

веществам, которые имеют сродство к данному рецептору. Выделяют несколько типов адренорецепторов:  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -,  $\beta_3$ -адренорецепторы [71].

Известно, что к эффектам альфа-адренорецепторов относятся: констрикция артерий и вен, снижение активности симпато-адреналовой системы, повышение тонуса блуждающего нерва, высвобождение оксида азота, уменьшение саливации, торможение баро- и хеморефлекторной функции каротидного клубочка, уменьшение секреции инсулина, торможение липолиза, уменьшение секреции ренина, увеличение реабсорбции натрия и воды в проксимальных канальцах, секреция соматотропного гормона, стимуляция агрегации тромбоцитов, стимуляция реабсорбции Na и воды в кишечнике [36]. Известно, что  $\beta_1$ -рецепторы локализируются в сердце, стимуляция которых увеличивает силу и частоту сердечных сокращений, а также повышает артериальное давление; почечной ткани, их стимуляция увеличивает выброс ренина юкстагломерулярным аппаратом почек [54]. В миокарде  $\beta$ -адренорецепторы являются основными регуляторами сердечной деятельности. Установлено, что  $\beta_1$ -и  $\beta_2$ -адренорецепторы повышают хронотропный и инотропный эффекты, могут быть активированы катехоламинами [94].  $\beta_2$ -рецепторы также находятся на клетках печени, гладких и скелетных мышц, жировой ткани, на мембране гранулоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов и на клетках других тканей [74].

В современных работах описано около 130 полиморфизмов гена альфа2а-адренорецепторов. Активно изучаются влияния полиморфизмов G-аллели (-1291) C(FAM)>G(R6G) ADRA2A (rs1800544) на функцию кодирующихся данным геном рецепторов [19].

Из всех адренорецепторов наиболее изученными являются полиморфизмы гена ADRB1, расположенные на 10-й хромосоме в области 10q24-26. В работах описано 33 полиморфных сайта этого гена. Наиболее перспективными в дальнейшем изучении считаются полиморфизмы Arg389Gly, Ser49Gly и Ala59Ser, которые определяют взаимодействие с белком G [16]. Для  $\beta_1$ -адренергического рецептора изучено два функционально соответствующих единичных нуклеотидных полиморфизмов: первый полиморфизм характеризуется наличием

Глицина (Gly) или аргинина (Arg) в положении аминокислоты 389 (Arg389Gly), второй – наличием Серина (Ser) или глицина (Gly) в положении аминокислоты 49 (Ser49Gly). Аллель Arg389 продемонстрировал более высокую аффинность сцепления и гиперактивную сигнализацию в экспериментальных моделях сердечной недостаточности. Полиморфизм  $\beta$ 1-адренорецепторов Arg389Gly был связан с проявлением желудочковой тахикардии; Gly389 аллель был связан с более низкой частотой желудочковой тахикардии [101].

В современных исследованиях активно изучается влияние полиморфизма гена ADRB2, который располагается в области 5q31-325-й хромосомы. В кодирующей части гена ADRB2 изучено 12 полиморфизмов, 5 из которых (Arg16Gly, Gln27Glu, Val34Met, Thr164Ile и Ser220Cys) представляют наибольший интерес. Данные полиморфизмы приводят к функциональным нарушениям работы рецептора. Наибольшее влияние на фенотипические проявления заболевания оказывают полиморфизмы Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 [16].

Человеческий ген B2AR кодирует 413 аминокислотных рецепторных белков, которые имеют внеклеточное окончание аминокислотной группой, 7 трансмембранных охватывающих доменов и внутриклеточное окончание карбоксильной группой [160]. В исследованиях было показано, что замена даже одной аминокислоты приводит к значительным изменениям активности рецепторов. Скрининг на мутации в гене B2AR привел к обнаружению девяти полиморфизмов, только два из которых были относительно распространены [160]. Полиморфизм Arg16Gly характеризуется изменением в 46 нуклеотиде, произошла замена аргинина на глицин в 16 аминокислоте. Исследования полиморфизмов B2AR показали, что мутированные рецепторы имеют нормальное связывание и сцепление с аденилилциклазой, но данные изменения способствовали снижению активности рецепторов. В исследованиях сообщалось, что полиморфизм Gly16 ассоциирован с тяжелой астмой, так как ген B2AR имеет важное значение в регуляции тонуса мышц дыхательных путей [160]. В исследовании С.Е. Ramsay с соавторами выявлено, что при инфекции респираторной системы у пациентов с

полиморфизмом Arg16Gly наблюдается более тяжелое течение за счет проявления респираторных симптомов [160].

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) играет важную роль в целостности эндотелия сосудов, в процессе повреждения эндотелия сосудов и формирования капиллярной утечки [123]. VEGF участвует в формировании многих заболеваний, таких как ретинопатия новорожденных [143], атеросклероз, отек головного мозга и восстановление сосудов после ишемического инсульта [132], болезнь Альцгеймера, острый церебральный синдром, инфаркт, болезнь Паркинсона, мигрень у женщин, бронхиальная астма. Генетические факторы, по-видимому, играют важную роль в формировании предрасположенности к цереброваскулярным заболеваниям [130, 188]. Ген VEGF расположен на 6 хромосоме в локусе бр21.3 и состоит из 8 экзонов и 7 интронов. Описано более 30 полиморфизмов гена VEGF, обнаружено, что данные полиморфизмы влияют на синтез белка VEGF. Обнаружено, что полиморфизмы +936 С/Т (rs3025039), -2578 С/А (rs699947) влияют на активность VEGF. Мета-анализ показал, что полиморфизм +936 С/Т связан с высоким риском инсульта. VEGF поддерживает гомеостаз кровеносных сосудов и усиливает неоангиогенез как при физиологических, так и при патологических состояниях. При воздействии гипоксии VEGF, особенно в головном мозге, повышает проницаемость сосудов и активирует ангиогенез [184]. Обнаружено, что генетические вариации в +936 С/Т и -2578 С/А были связаны с риском развития инсульта, особенно в азиатской популяции [193]. Активно изучается влияние полиморфных вариантов -634 G>C, 936 C>T и 12143 C>A гена VEGF на развитие беременности и плода. Авторы приходят к выводу, что полиморфный вариант 936 C>T гена VEGF больше всего влияет на нарушения развития эмбриона, вплоть до замершей беременности, а полиморфизм -634 G>C этого же гена не приводит к нарушениям течения беременности [80].

Несмотря на то что в современных молекулярно-генетических, иммунологических исследованиях, изучающих влияние VEGF на развитие различных патологических состояний, накопилось большое количество

информации, актуальность данной темы сохраняется на высоком уровне. Дальнейшие исследования могут позволить найти механизм, позволяющий влиять на любой патологический процесс, сведя до минимума вероятность осложнений [8].

### **1.5. Особенности лабораторной диагностики тяжелых состояний у недоношенных детей**

Эффективность лечения и снижение летальности при тяжелых состояниях зависит от своевременного назначения адекватной терапии. Совершенствование лечебного процесса зависит от появления новых методов быстрого выявления патологических состояний. К ним относятся клинические данные и новые лабораторные тесты. В настоящее время маркеры, используемые для прогнозирования полиорганной недостаточности у пациентов, не всегда характеризуются как «быстрая методика раннего выявления» [113].

Сепсис не имеет специфических признаков, в результате чего стартовая эмпирическая антибактериальная терапия назначается даже детям с подозрением на инфекцию. Неадекватное эмпирическое лечение антибиотиками новорожденных детей, у которых нет инфекции, может иметь серьезные побочные эффекты [131]. Однако при наличии раннего неонатального сепсиса эффективную антибиотикотерапию необходимо начать в течение первого часа, а каждый час задержки назначения такой терапии в течение первых 6 часов снижает выживаемость на 7,6% [13]. В клинической практике скрининговыми лабораторными исследованиями, позволяющими заподозрить неонатальный сепсис, являются общий анализ крови (ОАК), абсолютное количество нейтрофилов, доля незрелых и общих нейтрофилов, СРП и ПКТ [108]. Эти тесты не обеспечивают точную диагностику во всех случаях, поскольку имеют недостаточную чувствительность и специфичность [100]. ОАК позволяет легко обнаруживать здоровых детей, однако для выявления детей с ранним неонатальным сепсисом без проведения дополнительных исследований он малочувствителен [120]. В связи с этим поиск новых диагностических тестов остается актуальным. Диагностическая ценность инфекционных биомаркеров на

разных стадиях заболевания различна: на ранней стадии большей диагностической ценностью обладают уровни ИЛ-6, ИЛ-8, фактор некроза опухолей альфа (ФНО- $\alpha$ ), CD64, а на более поздних стадиях – ПКТ и СРП [105]. Многочисленные исследования указывают на то, что самыми ранними маркерами сепсиса являются цитокины [191]: ФНО- $\alpha$ , ИЛ-10 и ИЛ-6. Их пик приходится на 2–4 часа от начала заболевания. Следующим маркером сепсиса является ПКТ, который достигает максимума через 8–12 часов от начала заболевания [110]. Далее начинает повышаться основной ранний маркер воспаления СРП, который достигает пика через 12–24 часа от начала заболевания [13].

СРП является одним из наиболее изученных маркеров диагностики неонатального сепсиса. В начале инфекционного процесса он имеет низкую чувствительность, однако его диагностическая ценность увеличивается при проведении нескольких измерений, особенно при совместной оценке с другими инфекционными маркерами, такими как интерлейкины и ПКТ [97]. Изолированно СРП, взятый при рождении, мало информативен. Однако в сравнении через 48 часов после рождения показывает положительную прогностическую ценность, чувствительность метода значительно возрастает. Это характеризует СРП как поздний маркер инфекции [120].

В последние годы ПКТ стал надежным маркером неонатального сепсиса, однако его применение ограничено в развивающихся странах из-за высокой стоимости [164]. В некоторых европейских лечебных учреждениях ПКТ используют для принятия решений о назначении и прекращении антибиотикотерапии у новорожденных детей с подозрением на неонатальный сепсис [165]. Однако ПКТ обладает рядом недостатков, затрудняющих диагностику сепсиса: 1) большая «серая зона»: ПКТ может быть повышен без инфекции до 1 нг/мл; при локальных бактериальных инфекциях 0,3–1,5 нг/мл; при тяжелых вирусных инфекциях 0,5–2 нг/мл.; в данных случаях диагноз сепсис поставить нельзя, необходимо повторить измерения через 6–24 часа; 2) неспецифическое повышение в течение 24–48 часов без инфекционного процесса при состояниях, связанных с повреждением тканей: хирургия, травмы,

кровоизлияния; 3) не связанное с наличием инфекционного процесса повышение ПКТ у новорожденных детей в первые 48 часов жизни; 4) длительный период полужизни – 25–30 часов, что затрудняет мониторинг тяжести сепсиса [142].

Существуют работы по изучению ценности ИЛ-6 в диагностике раннего неонатального сепсиса. В сочетании с другими перинатальными факторами ИЛ-6 позволяет заподозрить сепсис. Однако общая диагностическая точность не позволяет использовать данный маркер как скрининговый метод в диагностике сепсиса [118]. Чувствительность провоспалительных цитокинов как биомаркеров неонатального сепсиса достаточно хорошо изучена. Известно, что ФНО- $\alpha$ , интерлейкин-1-бета (ИЛ-1 $\beta$ ), ИЛ-6 и ИЛ-8 быстро и существенно повышаются при неонатальном сепсисе [154]. Умеренное повышение этих цитокинов способствует активации иммунного ответа на инфекцию. При чрезмерной активации провоспалительных цитокинов может развиваться «цитокиновая буря», которая, как правило, наблюдается при тяжелом течении инфекционного процесса с высоким риском летального исхода вследствие полиорганной недостаточности. Поэтому некоторые авторы изучают цитокиновый профиль в качестве прогностического биомаркера для прогноза тяжести заболевания и исхода [186]. Исходя из патогенеза неонатального сепсиса, иммунный ответ разделен на две фазы: ССВО и синдром компенсаторного противовоспалительного ответа (CARS). Первая фаза (ССВО) ассоциируется с избыточным высвобождением провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$ ) в кровотоки. Вторая фаза иммунного ответа (CARS) характеризуется секрецией противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) [136]. Преобладание второй фазы над первой при неонатальном сепсисе в современных работах рассматривается как один из важнейших факторов летальности у новорожденных в ранний неонатальный период [91]. Такие факторы, как ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6, не вошли в «золотой стандарт» по причине короткого периода полураспада. Период полураспада данных биомаркеров составляет примерно 100 минут, что делает практически невозможным исследование данных цитокинов в рутинной практике [152]. Тем не менее при неонатальном сепсисе эти цитокины, как

правило, повышаются очень быстро. Kh. S. Khaertynov с соавторами обнаружили, что степень повышения концентрации цитокинов зависит от возбудителя [109]. При грибковом сепсисе у новорожденных увеличивается уровень ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  (по сравнению с бактериальным сепсисом) [156]. Повышенный уровень противовоспалительных цитокинов у детей с неонатальным сепсисом является одним из важных звеньев системного воспаления при генерализованной инфекции. Любые попытки подавления данных иммунных реакций при неонатальном сепсисе приводили к осложнениям, таким как полиорганные дисфункции [109]. В современных работах активно изучаются полиморфизмы различных генов как маркеры предрасположенности к более тяжелому течению инфекционных процессов [2, 149]. В частности, обнаружено, что генетический полиморфизм ИЛ-1 $\beta$  повышает вероятность развития сепсиса [102]. Также изучается диагностическая ценность МикроРНК (миРНК) как маркера раннего неонатального сепсиса. МиРНК – это короткие некодирующие РНК, которые участвуют в посттранскрипционной регуляции генов. МиРНК играет жизненно важную роль в биологических процессах, таких как рост клеток, развитие и деятельность. Они также действуют как ключевые регуляторы на различных стадиях иммунного ответа. Некоторые миРНК циркулируют в сыворотке и плазме крови при сепсисе. Однако роль миРНК в развитии неонатального сепсиса изучена недостаточно [116]. Наличие миРНК связано с уровнем цитокинов в плазме крови [96]. В аналогичном исследовании Wang с соавторами обнаружили, что при сепсисе определяется достоверно низкая концентрация миРНК-146а и миРНК-223 [174]. Vasques-Novoa и Wang с соавторами в своих работах обнаружили повышение плазменных миРНК-155 при сепсисе и септическом шоке [146].

С 2014 года стали активно изучать новый диагностический маркер – пресепсин. Пресепсин – это циркулирующий белок, являющийся N-концевым фрагментом рецептора CD14 макрофагов, концентрация которого в крови быстро возрастает при развитии системных инфекций и сепсиса [81]. Механизм повышения уровней пресепсина отличается от механизма повышения других

доступных маркеров, таких как СРП, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-10, ПКТ [13]. Механизм продукции пресепсина связан с активацией бактериального фагоцитоза. Под действием фагоцитоза CD14 расщепляется лизосомальными протеиназами до фермента – пресепсина [81]. Механизм этого процесса и роль пресепсина в патогенезе инфекционных процессов мало изучены. В некоторых работах утверждается, что пресепсин, в отличие от других маркеров сепсиса, позволяет диагностировать сепсис до манифестации его клинических проявлений, надежно отражает реальную динамику тяжести инфекционного процесса и изменяется в зависимости от эффективности терапии [13]. Уровень пресепсина в крови и ликворе является надежным маркером инфекционного процесса, в том числе и у недоношенных новорожденных детей [52]. Отдельные исследования указывают на прямую корреляционную связь высокого уровня пресепсина с летальностью при септическом шоке [93]. Однако при дальнейшем изучении пресепсина были получены очень противоречивые данные. В сравнительном анализе СРП, ПКТ и пресепсина D. Rogic с соавторами получили неоднозначные результаты и пришли к выводу, что пресепсин недостаточно хорошо изучен, а следовательно, необходимо продолжать использовать ПКТ в диагностике сепсиса [95]. В исследовании 2017 года D. Mihajlovic с соавторами не удалось обнаружить статистически достоверного различия между диагностической ценностью ПКТ и пресепсина. Авторы также приходят к выводу, что пресепсин может быть использован в диагностике сепсиса только совместно с ПКТ [187].

Е. Saboohi с соавторами в своей работе обнаружили, что только у 50% пациентов с повышенным количеством лейкоцитов (более  $26 \times 10^9/\text{л}$ ) подтвердилась неонатальная инфекция. Такие патологические состояния, как асфиксия в родах и РДС, влияют на показатели общего анализа крови. СРП показал специфичность 76,47%, чувствительность 70,58%, положительную прогностическую ценность 42,85% и отрицательную прогностическую ценность 91,23%. Отношение незрелых форм нейтрофилов к зрелым – индекс ядерного сдвига нейтрофилов (ИЯСН)  $\geq 0,2$  – показало специфичность 83,8%,

чувствительность 76,5%, положительную прогностическую ценность 54,6% и отрицательную прогностическую ценность 93,44% [139].

Некоторые исследователи, изучая ширину распределения эритроцитов, пришли к выводу, что увеличение диаметра эритроцитов является важным прогностическим фактором летальности при различных заболеваниях, так как этот показатель отражает степень общего воспалительного процесса и окислительного стресса [137]. При неонатальном сепсисе наблюдается статистически значимое увеличение ширины распределения эритроцитов [170]. Ряд исследователей пришли к выводу, что данный показатель является многообещающим в диагностике неонатального сепсиса, однако на данный момент требуется дополнительное изучение ширины распределения эритроцитов при неонатальном сепсисе [112].

В связи с отсутствием в клинической практике идеального диагностического биомаркера для диагностики неонатального сепсиса используется совокупность лабораторных и клинических данных.

Бактериальный посев крови остается «золотым стандартом» для диагностики раннего неонатального сепсиса. Но недостаточный объем крови может привести к ложноотрицательным результатам [147] вследствие низкой плотности инфицирующих микроорганизмов, в связи с чем в большинстве случаев возбудитель остается не идентифицированным [120], тогда как контаминация образцов крови может давать ложноположительные результаты [65]. Наличие отрицательного результата анализа крови на стерильность не гарантирует отсутствие инфекции, однако положительный результат подтверждает инфицирование [109, 127]. Эффективность бактериологического исследования крови также зависит от типа возбудителя. J. M. Naulikha в своей работе выявил, что 26% всех случаев неонатального сепсиса были вызваны анаэробами, которые невозможно определить с помощью бактериального посева крови. Несмотря на отрицательные результаты бактериологического исследования крови, клинические и лабораторные данные свидетельствовали о

наличии инфекции, а при назначении соответствующей антибактериальной терапии происходило выздоровление пациентов [117].

Длительно текущий инфекционный процесс в антенатальном периоде может привести к истощению адаптационных возможностей организма ребенка при рождении, в то время как у недоношенных детей, рожденных раньше положенного срока по причине болезней матерей, резервы организма не истощены, а истощаются только к третьим суткам жизни. Данное утверждение подтверждает своей работой Н.Л. Рыбкина. Автор приходит к выводу, что гормональные изменения у недоношенных детей к концу первых трех суток жизни обусловлены истощением адаптационных систем [68].

### **1.6. Эндотелиальная дисфункция и тяжелые состояния у недоношенных детей в неонатальном периоде**

Процесс образования новых сосудов представляет интерес для современной науки. Несмотря на то что данной темой занимался Джон Хантер еще в 1787 г, она остается актуальной. Эндотелиальный фактор был открыт G. Dvorak в 1983 г. при изучении роста сосудов в опухоли [8].

Основой сосудов служат их зачатки, построенные из эндотелия, расположенного на базальной мембране. В необходимых местах на них затем наслаивается соединительная ткань и гладкая мускулатура [55]. Первые эндотелиальные клетки образуются на ранних сроках эмбрионального развития плода из клеток-предшественников крови. Чтобы образовать зачатки кровеносных сосудов, первым эндотелиальным клеткам необходимо мигрировать и дифференцироваться. Данный процесс называется васкулогенез. Впоследствии рост сосудов происходит за счет перемещения и деления эндотелиальных клеток первых сосудов, этот процесс получил название ангиогенез [38].

Для начала роста нового сосуда необходимо, чтобы на стенке существующего сосуда возник отросток, на вершине которого должна находиться специализированная эндотелиальная клетка. Этот отросток со специализированной эндотелиальной клеткой имеет другой набор генов по сравнению с эндотелиальными клетками сосудов. Эндотелиальные клетки могут

делиться, а вот краевая клетка не способна делиться, зато она способна эффективно реагировать на сигналы роста, получаемые от белков семейства PDGF/VEGF. Ткани, нуждающиеся в увеличении кровоснабжения, выделяют VEGF – сигнал, запускающий рост эндотелия сосудов. Распространение по тканям различных изоформ VEGF происходит с разной скоростью. Влияя на эндотелиальные клетки, VEGF активирует их деление. Разрастание клеток происходит по градиенту концентрации тканевого VEGF. Сосудистая сеть организма непрерывно перестраивается. После того как сосуды сформируются, эндотелий начинает влиять на ток крови посредством секреции NO. Эндотелиоциты имеют механорецепторы и, реагируя на повышение давления, могут вызывать расширение сосудов [55]. Эндотелиальные клетки участвуют во многих процессах: воспаление, гемостаз, поддержание гомеостаза, регуляция скорости кровотока путем изменения диаметра просвета сосудов и другие [55].

Различные подтипы VEGF взаимодействуют с клетками с помощью тирозинкиназных рецепторов (VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3). VEGF является гепаринсвязывающим гомодимерным гликопротеидом с молекулярной массой 45 кДа. Семейство факторов VEGF состоит из белков VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D и плацентарного фактора роста. Данные факторы участвуют во многих патологических и физиологических процессах в органах и тканях. Известно, что регуляция ангиогенеза напрямую зависит от влияния VEGF. Гипоксия активирует синтез VEGF. При длительно существующей ишемии происходит значительное повышение концентрации VEGF. VEGF может накапливаться в межклеточном пространстве и активировать проницаемость сосудистой стенки. Одной из интересных особенностей ангиогенеза является способность моноцитов мигрировать в нужном направлении по градиенту концентрации VEGF. Современные исследования позволяют сделать вывод, что VEGF-A является прогностическим маркером сосудистых «катастроф» в организме человека. VEGF-B обладает мощным нейропротекторным эффектом, блокирует апоптоз ганглиозных клеток головного мозга, что активно изучается с целью поиска новых методов лечения болезни Альцгеймера. VEGF-B не влияет на рост и

проницаемость сосудистой стенки. VEGF-C и D являются маркерами лимфоангиогенеза, в связи с чем нашли применение в диагностике онкологических заболеваний кроветворной системы [8].

В связи с тем, что все кровеносные сосуды имеют эндотелиальную выстилку, данные клетки являются мишенью при патологических состояниях [8]. Дисфункция эндотелия – это наиболее ранний процесс патогенеза разных заболеваний [8, 50].

Известно, что здоровый эндотелий секретирует вещества, которые помогают поддерживать структуру сосудистой стенки и сосудистый гомеостаз. При развитии эндотелиальной дисфункции происходит нарушение регуляции тонуса и проницаемости сосудов, что приводит к вазоконстрикции, активации воспалительных процессов и образованию тромбозов [107].

Работа X. Chen и соавторов подтверждает, что эндотелиальная дисфункция связана с преждевременными родами и преэклампсией. Они обнаружили, что повышение уровня содержания дисфункциональных биомаркеров эндотелиальной дисфункции в сыворотке молекула внутриклеточной адгезии-1 (ICAM-1) и молекулы адгезии сосудистой клетки-1 (VCAM-1) связано с преждевременными родами [107].

По мнению ряда исследователей, эндотелиальная дисфункция может также служить критерием оценки тяжести гипоксическо-ишемического повреждения головного мозга и являться предиктором дальнейших неврологических осложнений [125]. Группа азербайджанских исследователей пришла к выводу, что риск развития ВЖК у недоношенных детей может быть оценен путем определения содержания в плазме крови маркеров, регулирующих тонус сосудов, а их концентрация в крови может обладать прогностическим значением [125].

В настоящее время предложены различные биомаркеры для оценки повреждения эндотелия сосудов у пациентов с сепсисом [158]. Молекулы клеточной адгезии активно изучаются как биомаркеры, которые могут быть использованы для выявления ранних повреждений эндотелия у больных сепсисом. Такие трансмембранные белки, как VEGF, ICAM-1 и VCAM-1,

отвечают за процесс клеточной адгезии. Они позволяют клеткам взаимодействовать с внеклеточным матриксом, цитоскелетом и другими клетками внутри сосудистого эндотелия. ICAM-1 и VCAM-1 присутствуют в клеточной мембране как лейкоцитов, так и клеток, выстилающих сосудистый эндотелий. С помощью данных белков лейкоциты приобретают способность мигрировать в близлежащие ткани. Эти молекулы адгезии определяются в очень больших количествах у пациентов с выраженным воспалительным состоянием, таким как сепсис. Однако значение ICAM-1, VCAM-1, VEGF для прогнозирования течения клинических состояний и исходов в настоящее время остается спорным [123].

VEGF является основным ангиогенным фактором и основным регулятором пролиферации эндотелиальных клеток. VEGF участвует в восстановлении эндотелия и имеет антиапоптотические эффекты, за счет чего оказывает решающее влияние на функционирование эндотелия в физиологических условиях и его жизнеспособность при повреждении. В современных исследованиях выявлено, что VEGF также участвует в патологических процессах различных пролиферативных заболеваний. Медиаторы воспаления, такие как простагландин E, ИЛ-1 и ИЛ-6, вызывают увеличение VEGF-A, что приводит к активации образования фиброза в сосудах и способствует активации кальцификации стенок магистральных сосудов [130]. В своей работе В. Amalakuhan с соавторами показали, что при сепсисе VEGF может приводить к повреждению эндотелия сосудов и формированию капиллярной утечки [123], повышению проницаемости сосудов и оказывать прокоагулянтное действие, вызывая образование микротромбов в периферических сосудах. Тем не менее, несмотря на эти разнообразные функции данного маркера, которые активируются во время сепсиса, ассоциация высоких уровней VEGF со смертностью в клинических исследованиях дала противоречивые результаты [123].

В современных работах достаточно хорошо изучена роль VEGF в развитии патологических состояний в офтальмологии (возрастной макулодистрофии и ретинопатии новорожденных). Полученные результаты исследований в

офтальмологии помогли создать препарат (антитела к VEGF), позволяющий лечить ретинопатию [143].

В исследованиях, которые измеряли содержание VEGF в пуповинной крови с целью выяснения связи VEGF с ретинопатией недоношенных, описанные результаты остаются противоречивыми, это указывает на то, что данная тема требует продолжения исследований. Многие исследователи приходят к выводу, что длительное низкое содержание VEGF в сыворотке крови может оказывать влияние на развивающиеся органы у недоношенного новорожденного. В человеческой почке рецепторы VEGF, VEGFR-1 и VEGFR-2 располагаются на эндотелиальных клетках клубочка и перитубулярных клетках. В работе клубочков стимуляция VEGF-VEGFR активирует мобилизацию ангиобластов и начальное развитие капилляров, а затем участвует в поддержании функции эндотелия. Также доказана связь VEGF с развитием различных тканей организма, в частности мозга, легких и капилляров [143].

VEGF-A важен для физиологического роста сосудов легких, его отсутствие приводит к нарушению микрососудистого развития плода легкого. В своей работе С. Roggi и соавторы изучали взаимосвязь между активностью VEGF и развитием бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей. Ими было обнаружено, что гаплотипы VEGF могут влиять на преждевременные роды, масса тела при рождении и развитие бронхолегочной дисплазии [129].

БАКТ – это новый неинвазивный метод, разработанный для оценки эндотелиальной дисфункции, основанный на вейвлет-анализе низкоамплитудных ( $\sim 0,01$  ° C) колебаний температуры кожи. Известно, что возникающие на поверхности кожи температурные колебания обусловлены периодическим изменением тонуса поверхностных микрососудов. Скорость кровотока зависит от тонуса сосудов и изменяет температуру поверхности кожи в низкоамплитудных значениях. В ряде исследований подтверждается статистическая значимость корреляции показателей кожной температуры и скорости кровотока [167].

Высокочастотные колебания температуры, вызванные дыхательными и пульсовыми волнами, затухают на поверхности кожи, в связи с чем

зафиксировать данные колебания температуры невозможно. Благодаря спектральному анализу колебаний кожной температуры можно дифференцировать вклад миогенного, нейрогенного и эндотелиального механизмов регуляции тонуса сосудистой системы. Существующие способы оценки динамических параметров микроциркуляции, в частности анализ скорости прохождения кровяных клеток в капиллярах, крайне затруднительны, в связи с чем ограничены в применении. Наиболее распространенным способом получения информации об изменениях тонуса кровеносных сосудов у новорожденных детей является доплеровская флоуметрия [180]. Данные доплеровской флоуметрии коррелируют с данными, полученными методом вейвлет-анализа низкоамплитудных колебаний кожной температуры [50, 159, 167, 183]. Указанные исследования подтверждают возможность использования методики вейвлет-анализа колебаний кожной температуры для изучения тонуса сосудов микроциркуляторного русла. Выделяют пять диапазонов амплитуд колебаний, в основе которых лежит влияние эндотелия (0,0095–0,02 Гц), нейрогенного воздействия (0,02–0,05 Гц), миогенного влияния (0,05–0,14 Гц), дыхания (0,14–0,5 Гц) и пульсовой волны (0,5–2 Гц). Данная методика позволяет изучить влияние миогенного, нейрогенного и эндотелиального механизмов в регуляции микроциркуляции [32, 159, 177, 190].

Представляет интерес исследование реакции микроциркуляторной системы на внешние воздействия – функциональную тепловую пробу. Проведение одного из наиболее часто используемых тестов для функциональной оценки эндотелия, холодной пробы, у глубоко недоношенных детей является невозможным по причине высоких рисков осложнений. В то же время проведение тепловой пробы является безопасной методикой. В ряде исследований указано, что тепловая проба не уступает в информативности холодной пробе [29].

### **1.7. Шкалы и методы оценки тяжести патологических состояний, применяемые у недоношенных детей (шкала Апгар, Сильвермана, NEOMOD)**

Тяжесть состояния у глубоко недоношенных детей в неонатальном периоде определяется наличием дисфункций органов и систем. Использование шкал оценки патологических состояний позволяет снизить влияние субъективного фактора.

В 1952 году доктор Вирджиния Апгар, анестезиолог из Колумбийского университета, разработала шкалу Апгар. Этот показатель регистрируется к концу 1 и 5 минуты у всех детей, а у детей, кто нуждается в реанимации, в качестве метода для мониторинга ответа на реанимационные мероприятия, продолжается регистрация баллов с интервалом в 5 минут. Баллы от 7 до 10 считаются обнадеживающими [178]. В настоящее время оценка по шкале Апгар не определяет первоначальную потребность в реанимационной помощи, поскольку реанимационные мероприятия должны быть начаты до постановки оценки по шкале Апгар в конце 1 минуты [99]. Низкая оценка по шкале Апгар (от 0 до 3 в течение 1 минуты) не является предиктором неблагоприятного клинического исхода или долгосрочных проблем со здоровьем [150]. Элементы оценки по шкале Апгар включают цвет кожных покровов, частоту сердечных сокращений, рефлексы, мышечный тонус и дыхание. Каждому признаку ставится оценка 0 (ноль), 1 или 2 балла [178].

Оценка по шкале Апгар сама по себе не должна рассматриваться как свидетельство асфиксии или доказательство внутриутробного гипоксического события. Низкие баллы по шкале Апгар на 5-й минуте коррелируют со смертностью и могут указывать на повышенный риск развития детского церебрального паралича. Баллы менее пяти на 5-й и 10-й минутах коррелируют с повышенным относительным риском развития детского церебрального паралича. Баллы по шкале Апгар, которые остаются на уровне 0 после 10 минут, могут указывать на то, что прекращение реанимационных усилий является целесообразным, поскольку очень немногие дети выживают с хорошими

неврологическими исходами, если частота сердечных сокращений не была обнаружена в течение первых 10 минут [150].

Оценка по шкале Апгар может варьироваться в зависимости от гестационного возраста, массы тела при рождении, применения различных лекарств матерью, употребления наркотиков или анестезии, а также врожденных аномалий. Такие элементы оценки, как тонус, цвет и рефлекторная раздражительность, частично зависят от физиологической зрелости младенцев, что может привести к ложному снижению показателей шкалы Апгар, и здоровому недоношенному младенцу без асфиксии будет поставлен ложный диагноз [183]. Шкала полезна только для оценки реакции на реанимацию, но не должна использоваться для экстраполяции результатов, так как не имеет долгосрочного клинического значения [178]. Однако комитет по акушерской практике Американской академии педиатрии подтвердил полезность метода в качестве прогностического показателя риска исхода в неонатальной и младенческой смертности [162]. На сегодняшний день авторы расходятся во мнении о ценности шкалы Апгар у недоношенных новорожденных. J.H. Park и соавторы выявили, что оценка по шкале Апгар на 5 минуте и низкий уровень альбумина в сыворотке являются более актуальными в прогнозировании летальности у детей с ЭНМТ, чем оценка по шкале Апгар изолированно [163].

Шкала Сильвермана – шкала клинической оценки ребенка с респираторным дистресс-синдромом, разработанная в 1956 году американскими педиатрами Уильямом Сильверманом и Дороти Андерсен. Согласно приказу № 203н от 10.05.2017 г. «Об утверждении критериев оценки качества медицинской помощи», все недоношенные новорожденные, родившиеся с проявлениями дыхательной недостаточности, должны быть оценены по шкале Сильвермана. Оценку производят с целью ранней диагностики дыхательных расстройств у недоношенных детей (при рождении через 2, 6, 12 и 24 часа жизни). Каждому элементу ставится оценка 0 (ноль), 1 или 2 балла. Полученные баллы оцениваются следующим образом: 8–10 баллов – дыхательная недостаточность III степени; 7–6 баллов – дыхательная недостаточность II степени; 4–5 баллов –

дыхательная недостаточность I степени; 3–2–1 балл – удовлетворительное состояние новорожденного. Ограничением в использовании шкалы Сильвермана, как единственного критерия в принятии решения о проведении респираторной поддержки сразу после рождения ребенка, является ее низкая чувствительность, так как данная оценка не всегда отражает реальную тяжесть РДС [30].

В настоящее время у новорожденных детей в критическом состоянии для количественной оценки тяжести состояния и определения прогноза широко используются шкалы перинатальная шкала острого состояния новорожденного II (SNAPPE II), CRIB II, NEOMOD.

Шкала SNAPPE II позволяет оценить состояние новорожденного ребенка по следующим параметрам: гестационный возраст, масса тела при рождении, оценка по шкале Апгар к концу 5 минуты, уровень мочевины, систолическое и диастолическое артериальное давление, соотношение  $PaO_2/FiO_2$ , водородный показатель (рН), наличие повреждений, температура тела. Оценка по данной шкале производится в течение 12 часов после поступления ребенка в ОРИТ. Шкала индекса клинического риска для детей раннего возраста II (CRIB II) представляет собой обновленную и упрощенную оценку тяжести состояния новорожденного ребенка, который нуждается в проведении интенсивной терапии. Данная шкала включает в себя оценку следующих показателей: гестационный возраст, масса тела при рождении, температура при поступлении, пол, дефицит оснований (BE). Оценка проводится в первые 24 часа после поступления ребенка в ОРИТ. Оценка тяжести состояния больного осуществляется следующим образом: 0 баллов – норма, 1 балл – незначительное отклонение от нормы, требующее мониторинга, 3 балла – требуется корригирующая терапия, 5 баллов – жизнеугрожающее состояние [1].

Описано несколько исследований, изучающих прогностическую значимость данных шкал. В своей работе Е.Н. Серебрякова с соавторами провела ROC-анализ, отражающий прогностическую значимость оценки по шкалам SNAPPE II, CRIB II, NEOMOD. Авторы пришли к выводу, что для оценки тяжести органических дисфункций и оценки риска летального исхода у новорожденных с СПОН

предпочтительней использовать шкалу NEOMOD в раннем неонатальном периоде по сравнению со шкалами SNAPPE II и CRIB II. Шкала NEOMOD показала более высокую прогностическую значимость и может быть использована у новорожденных вне зависимости от гестационного возраста и массы тела при рождении [73]. Единственной шкалой органной дисфункции, созданной на достаточно значимой выборке детей с ЭНМТ, является шкала NEOMOD [89]. В 2001 году группой авторов во главе с J. Janota было опубликовано исследование о прогностической ценности разработанной ими шкалы NEOMOD. Авторы подтвердили высокую ценность данной шкалы в оценке тяжести СПОН и риска летального исхода в первые 28 дней жизни у глубоко недоношенных детей. [106]. Данная шкала оценивает состояние семи систем (органов дыхания, сердечно-сосудистой, центральной нервной, мочевыделительной системы, желудочно-кишечного тракта, системы гемостаза, кислотно-щелочного состояния (КЩС)). Оценки 0, 1 и 2 указывают на выраженность нарушений функционирования системы. При отсутствии нарушений присваивается 0 баллов, при умеренной дисфункции – 1 балл, при выраженной дисфункции – 2 балла [72]. Также создан модифицированный вариант шкалы NEOMOD. Merih Cetinkaya с соавторами предложили добавить к исследуемым системам, микроциркуляторную систему. В частности, было предложено дополнительно исследовать отечность тканей и сывороточный альбумин [106]. К сожалению, дополнительно добавленный инвазивный элемент, необходимый для использования, модифицированной шкалы затрудняет ее рутинное использование.

### **1.8. Исходы и состояние здоровья недоношенных детей, перенесших тяжелые состояния в неонатальном периоде**

Современная наука и техника не стоят на месте, прогресс затронул все сферы медицины. Значительные изменения произошли и в области выхаживания глубоко недоношенных детей, в частности появились протоколы ведения больных с РДС, детей с ЭНМТ, по оказанию помощи в родовом зале, что позволило увеличить выживаемость таких пациентов. Тенденция современной структуры

заболеваемости недоношенных детей, получающих лечение в отделениях реанимации, меняется в сторону увеличения количества детей с ЭНМТ [77].

Наличие внутриутробной инфекции может приводить к развитию неонатального сепсиса у недоношенных новорожденных. Это может активировать у детей фетальную воспалительную реакцию, которая в свою очередь может привести к повреждению белого вещества головного мозга и нарушениям нейродинамики в более поздние сроки [192].

Развитие критического состояния у новорожденного запускает синтез цитокинов и активацию системного воспалительного ответа, воздействие которых на нервную систему сопровождается уменьшением количества дофаминергических и серотонинергических нейронов, изменением чувствительности гонадотропин-рилизинг гормона к стрессу, что оказывает влияние на становление нейроэндокринной регуляции иммунного ответа и увеличивает риск различных заболеваний в более зрелом возрасте [28, 72].

По данным Свердловской области, из всей популяции детей, родившихся с массой тела менее 2000 граммов, около 4% детей умирают после выписки из стационара. Из них около 70% младенцев умирают в первые 3 месяца жизни. Далее наблюдается обратно пропорциональная связь между летальностью и возрастом детей. Первое место из числа причин смерти заняло прогрессирование неврологических нарушений вследствие перенесенного критического состояния в периоде новорожденности. Примерно в 30% случаев патоморфологической основой неврологических состояний у глубоко недоношенных детей является ПВЛ. Примерно 16% детей оформляется инвалидность [77]. Многие авторы, анализируя исходы у глубоко недоношенных детей, приходят к выводу, что увеличение степени недоношенности приводит к росту количества инвалидности у детей [44, 77]. Ведущие места в структуре инвалидности занимают офтальмологические заболевания, детский церебральный паралич и окклюзионная гидроцефалия [77].

Таким образом, вышеизложенный обзор свидетельствует о том, что, несмотря на проведение множества разносторонних исследований различных

биомаркеров патологических процессов, которые свидетельствуют о развитии тяжелых состояний у глубоко недоношенных детей, идеального биомаркера обнаружить так и не удалось. В медицинском сообществе уже стали привычными ситуации, когда активно изучаемый биомаркер показывает высокую перспективность, однако при накоплении опыта его использования выявляются некоторые недостатки и надежды на обретение идеального биомаркера неизбежно рушатся.

При высоких значениях маркеров ССВО чаще всего не возникает трудностей в постановке диагноза. Однако в клинической практике врачи регулярно сталкиваются с проблемой диагностики инфекционного процесса у глубоко недоношенных детей, которая проявляется прогрессированием инфекционных процессов на фоне нормальных значений показателей общего анализа крови, СРП, ПКТ.

Широко применяемые лабораторные тесты заняли свою нишу в диагностике сепсиса у глубоко недоношенных детей. Использование методов определения цитокинов для диагностики иммунного ответа на инфекцию в рутинной практике затруднено из-за короткого периода полураспада данных биомаркеров, однако в индивидуальных случаях такие исследования способны помочь в диагностике сепсиса и указать на то, какой синдром преобладает: ССВО или CARS. Это позволяет пересмотреть диагностическую ценность остальных биомаркеров.

Наиболее перспективным направлением в поиске новых биомаркеров тяжелых состояний является изучение связи экспрессии маркера с полиморфизмами соответствующих генов. Данная тема остается малоизученной. В связи с отсутствием идеального диагностического биомаркера, позволяющего спрогнозировать ухудшение состояния и неблагоприятный исход, нами проведено исследование диагностической ценности различных инфекционных маркеров, маркеров эндотелиальной дисфункции, общеклинических данных в сочетании с полиморфизмами генов, ответственных за проявление данных маркеров.

## **Глава 2. Материалы и методы исследования**

### **2.1. Дизайн исследования и клинико-анамнестическая характеристика пациентов**

На базе ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера, на кафедре факультетской и госпитальной педиатрии, кафедре анестезиологии, реаниматологии и скорой медицинской помощи, в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных и недоношенных детей Перинатального центра ГБУЗ «Пермская краевая клиническая больница», под руководством д.м.н., профессора, член-корр. РАН, зав. каф. факультетской педиатрии и госпитальной педиатрии Евгения Григорьевича Фурмана и научного консультанта к.м.н., доцента, зав. каф. анестезиологии и реаниматологии Андрея Валентиновича Николенко проведено сплошное продольное сравнительное проспективное межпредметное исследование.

Родители обследуемых детей были ознакомлены с особенностями, целью и задачами исследования, дали свое добровольное информированное согласие. Диссертационная работа была утверждена локальным независимым этическим комитетом при ФГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера Минздрава России.

#### **Критерии включения в исследование:**

- 1) масса тела при рождении от 500 до 1500 граммов; гестационный возраст от 22 до 33 недель;
- 2) дыхательная недостаточность, потребовавшая аппаратной респираторной поддержки при рождении (постоянное положительное давление в конце выдоха (НСРАР), режим двойного положительного давления в дыхательных путях (DUOPAP), ИВЛ, высокочастотная осцилляторная искусственная вентиляция легких (ВЧОИВЛ)).

#### **Критерии исключения из исследования:**

- 1) синдром аспирации мекония;
- 2) гемолитическая болезнь новорожденных;
- 3) наличие комбинированных пороков развития;

- 4) критические ВПС;
- 5) задержка внутриутробного роста плода;
- 6) ВЖК в 1 сутки жизни.

В исследовании учитывались:

1. Данные анамнеза (гестационный возраст, масса тела и длины тела при рождении, данные шкалы Апгар, оценка по шкале Сильвермана, потребность в введении сурфактанта, отягощенный акушерско-гинекологический анамнез матери (наличие выкидышей, замерших и внематочных беременностей), вид родоразрешения (кесарево сечение или через естественные родовые пути));

2. Общеклинические показатели (тяжесть состояния по шкале NEOMOD, потребность в инотропной поддержке, потребность в инвазивной и неинвазивной вентиляции, параметры вентиляции, темпы диуреза, скорость клубочковой фильтрации (СКФ));

3. Данные общего анализа крови (количество эритроцитов, гемоглобина, гематокрит, лейкоцитов, эозинофилов, миелоцитов, юных нейтрофилов, палочкоядерных нейтрофилов, сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, тромбоцитов, ИЯСН);

4. Данные биохимического исследования крови (общий белок и альбумин, глюкоза, мочевины, креатинин, билирубин, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), СРП, калия, натрия, кальция, лактат);

5. Данные общего анализа мочи (количество лейкоцитов, общего белка);

6. Данные КЩС (рН, парциальное давление углекислого газа ( $pCO_2$ ), парциальное давление кислорода ( $pO_2$ ), гидрокарбонатный ион ( $HCO_3$ ), BE);

7. Амплитуды колебаний кожной температуры в эндотелиальном, нейрогенном и миогенном диапазонах регуляции микроциркуляции методом вейвлет-анализа в условиях тепловой пробы;

8. Уровень показателей VEGF, MCP-1, ИЛ-6, ИЛ-8 в крови;

9. Полиморфизмы генов у детей (ген ADRB2 полиморфизм Arg16Gly, ген ADRA2A полиморфизм C-1291G, ген ADRB1 полиморфизм Gly389Arg, ген

ADRB2 полиморфизм Arg16Gly, гена VEGF полиморфизмы C2578A, G634C, C936T);

10. Полиморфизмы генов у матерей (ген ADRB2 полиморфизм Arg16Gly).

С письменного информированного добровольного согласия родителей (законных представителей) в исследовании участвовал 41 недоношенный новорожденный ребенок.

Для решения поставленных задач все обследованные дети ретроспективно были разделены на три группы: 1 – выжившие с оценкой по шкале NEOMOD менее 3 баллов на 7 сутки жизни (n=24), 2 группа – выжившие с оценкой по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни 3 и более баллов (n=8), 3 группа – умершие дети в ОРИТ (n=8).

Масса тела при рождении детей первой группы Me (xJ-xK) – 1120 г (990–1280), второй - Me (xJ-xK) – 900 г (800–995), третьей – 745 г (650–880). По сроку гестации в первую группу вошли дети Me (xJ-xK) – 27,5 недель (27–28), во вторую – Me (xJ-xK) – 27 недель (26–27), в третью – 24,5 недель (24–27) соответственно (Таблица 1).

**Таблица 1.** Сравнительный анализ групп по гестационному сроку, массе тела и длине тела при рождении, с использованием H-критерия Краскела-Уоллиса, Me (xJ-xK) (95%-ный доверительный интервал)

Показатели	1 группа (n= 24)	2 группа (n= 9)	3 группа (n= 8)	H	P
Срок гестации (нед.)	27,50 (27,00– 28,00)	27,00 (26,00– 27,00)	24,50 (24,00– 27,00) ***	11,1972	0,0037
Масса тела при рождении (грамм)	1120,00 (990,00– 1280,00) *	900,00 (800,00– 995,00) **	745,00 (650,00– 880,00) ***	15,0940	0,0005
Длина тела при рождении (см.)	38,00 (36,00– 39,00) *	33,00 (32,00– 35,00)	32,00 (28,00– 33,00) ***	19,4025	0,0001

*Примечание:* Отмеченное в таблице значение P указывает на достоверное различие между всеми тремя группами, а достоверные различия между группами отмечены «\*».

\* Различия первой и второй группы статистически значимы по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

\*\* Различия второй и третьей группы статистически значимы по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

\*\*\* Различия первой и третьей группы статистически значимы по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

Для изучения влияния полиморфизмов генов у матерей (ген ADRB2 полиморфизм Arg16Gly) на риск развития преждевременных родов, тяжесть состояния у детей в исследование были включены 38 матерей исследуемых детей, а также 48 женщин, не имеющих отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза и родивших здоровых детей.

### **Расчет объема выборки (мощность исследования)**

1. Средняя масса тела недоношенных детей на момент рождения по данным предварительной выборочной оценки составила  $M = 1200$  гр.,  $\sigma = 120,1$  гр., ориентировочная средняя численность недоношенных детей в г. Перми составляет до 1 500 чел.

Расчет объема выборки проведен по формуле:

$$n = \frac{N \cdot t^2 \cdot \sigma^2}{N \cdot \Delta^2 + t^2 \cdot \sigma^2}$$

где  $n$  – минимальный объем выборки,  $N$  – объем генеральной совокупности,  $t$  – коэффициент достоверности 1,96 (при уровне достоверности исследования 95%),  $\sigma^2$  – стандартное отклонение для средней массы тела,  $\Delta$  – предельная ошибка выборки 5% (при уровне достоверности исследования 95%).

$$n = \frac{1500 \cdot 1,96^2 \cdot 120,1^2}{1500 \cdot 5^2 + 1,96^2 \cdot 120,1^2} = 18$$

2. При распространенности в 2019 году (по Пермскому краю\_ умерших детей из числа новорожденных с массой тела 1000–1488 гр. ( $2/187 \cdot 100 = 1,1$  случаев на 100 детей), расчет объема выборки проведен по формуле:

$$n = \frac{N \cdot t^2 \cdot P \cdot Q}{N \cdot \Delta^2 + t^2 \cdot P \cdot Q}$$

где  $n$  – минимальный объем выборки,  $N$  – объем генеральной совокупности,  $t$  – коэффициент достоверности 1,96 (при уровне достоверности исследования 95%),  $P$  – распространенность в % (1,1 случаев на 100),  $Q = 100 - P$ ,  $\Delta$  – предельная ошибка выборки 5% (при уровне достоверности исследования 95%).

$$n = \frac{187 \cdot 1,96^2 \cdot 1,1 \cdot (100 - 1,1)}{187 \cdot 5^2 + 1,96^2 \cdot 1,1 \cdot (100 - 1,1)} = 15$$

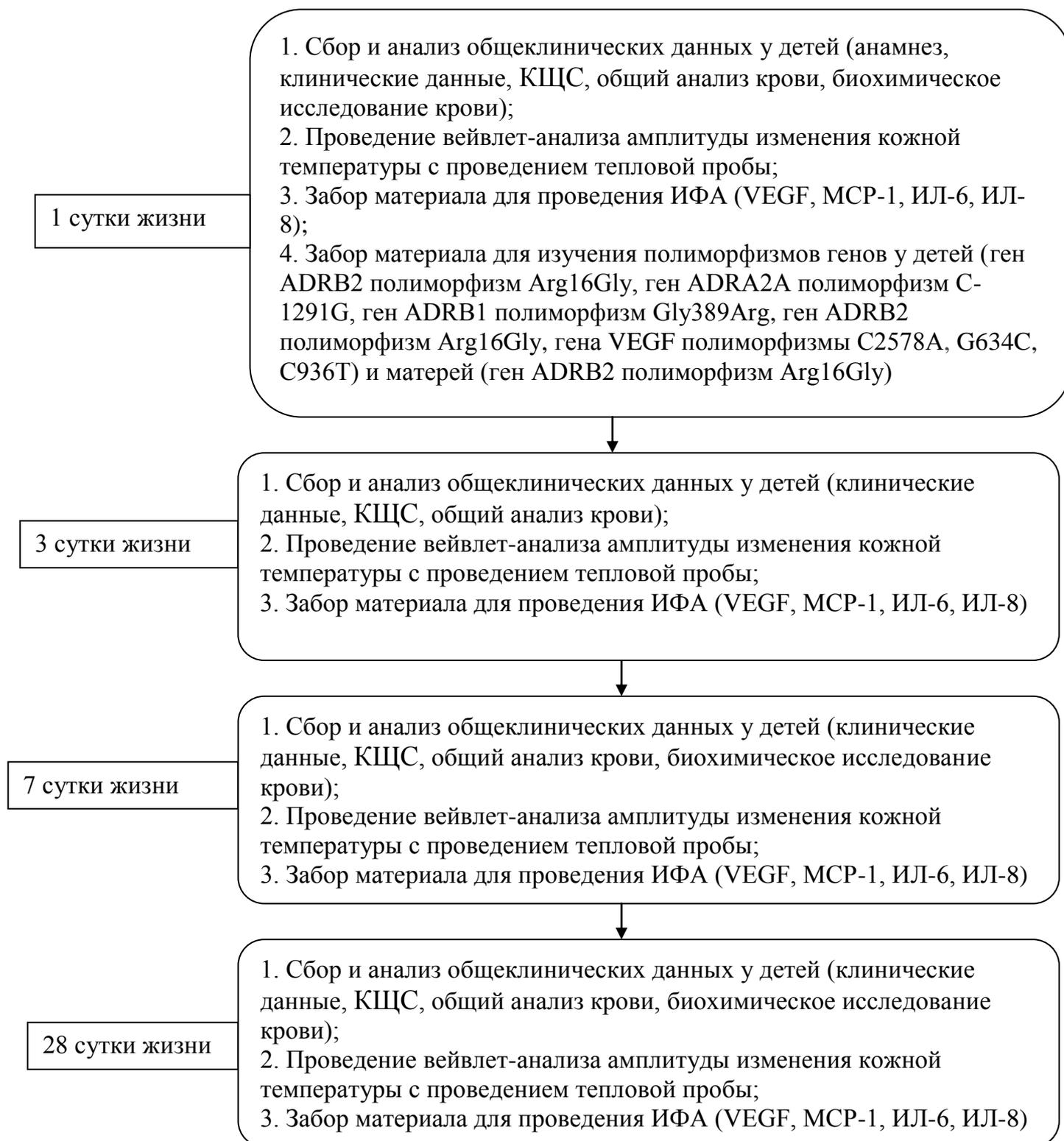
3. Также произведен расчет мощности исследования в программе MedCalc®

15.8 Portable:

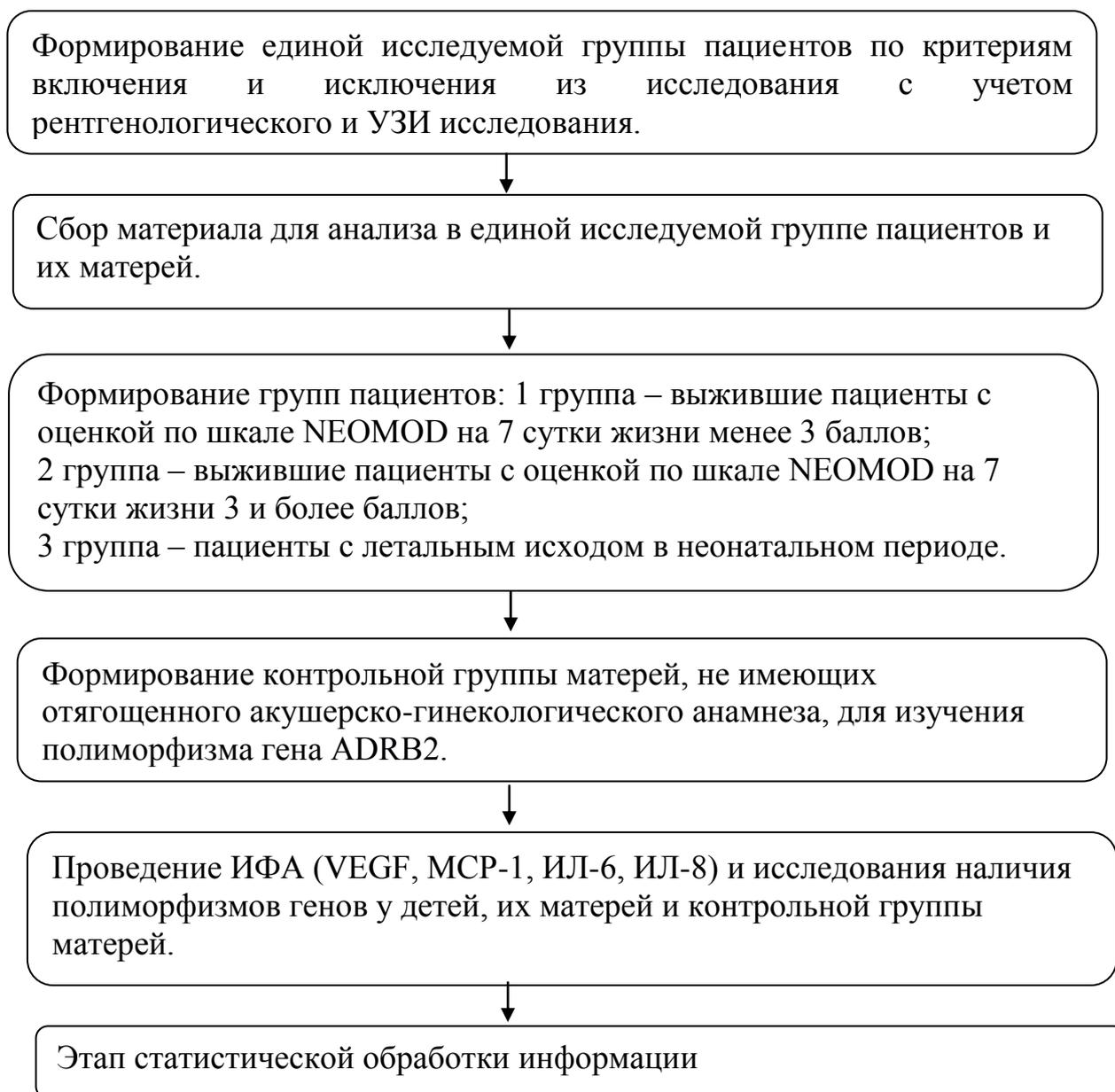
при стандартном уровне ошибки I типа  $\alpha = 0,05$  (альфа, значимость) и уровне ошибки II типа  $\beta = 0,20$  (бета,  $1 - \beta$  – мощность); при выборочной доле недоношенных детей с массой тела до 1000 гр.  $74/(452) \cdot 100 = 16,4\%$  при нулевой гипотезе (доля таких детей не превысит 50%) минимальный объем выборки должен составить 15 единиц наблюдения.

Таким образом, объем выборки в 40 детей полностью обеспечит необходимый уровень достоверности 95%.

На рисунке 1 показана схема обследования детей в 1, 3, 7 и 28 сутки жизни, а рисунок 2 отображает этапы исследования.



*Рис. 1.* Схема обследования



*Рис. 2.* Этапы исследования

## **2.2. Шкалы оценки тяжести (шкала Апгар, Сильвермана, NEOMOD)**

Элементы шкал оценки тяжести (шкала Апгар, Сильвермана, NEOMOD) представлены в таблицах 2–4.

**Таблица 2.** Элементы оценки по шкале Апгар [99, 150, 178]

Оцениваемые признаки	Баллы		
	0	1	2
Цвет кожных покровов	Бледный или цианотичный	Тело и губы розовые, кисти и ступни цианотичные	Полностью розовый
Частота сердцебиений	Сердцебиение отсутствует	Меньше 100 ударов в минуту	Выше 100 ударов в минуту
Наличие рефлексов и реакции на стимуляцию	Отсутствует	Гримасы	Активно двигается, громко кричит, чихает, кашляет
Состояние мышечного тонуса	Мышечного тонуса нет, конечности свисают	Слабый тонус и небольшое сгибание конечностей	Сильные движения, активный
Дыхание и крик ребенка	Отсутствие дыхания	Дыхание нерегулярное и поверхностное, крик слабый	Нормальное дыхание и громкий крик

Оценка по шкале Апгар проводится через 1 и 5 минут после рождения. Если к концу 5 минут ребенок имеет менее 7 баллов, тогда оценка продолжается с 5-минутными интервалами до 20 минут. Полученные баллы оцениваются следующим образом: Оценка 7–10 баллов указывает на удовлетворительным состоянии новорожденного, 4–6 баллов указывает на среднюю и умеренную асфиксию, 0–3 балла свидетельствует о тяжелой асфиксии. Низкие значения оценки по шкале Апгар у глубоко недоношенных детей могут быть обусловлены их морфофункциональной незрелостью [163, 178].

**Таблица 3.** Элементы оценки по шкале Сильвермана [30]

Оцениваемые признаки	Баллы		
	0	1	2
Движения грудной клетки	Грудь и живот равномерно участвуют в акте дыхания	Аритмичное, неравномерное дыхание	Парадоксальное дыхание
Втяжение межреберий	Отсутствует	Нерезко выражено	Резко выражено
Втяжение	Отсутствует	Нерезко выражено	Резко выражено,

грудины			держится постоянно
Положение нижней челюсти	Рот закрыт, нижняя челюсть не западает	Рот закрыт, нижняя челюсть западает	Рот открыт, нижняя челюсть западает
Дыхание	Спокойное, ровное	При аускультации слышен затрудненный вдох	Стонущее дыхание, слышное на расстоянии

Полученные баллы оцениваются следующим образом: 8–10 баллов указывает на дыхательную недостаточность III степени; 7–6 баллов свидетельствуют о дыхательной недостаточности II степени; 4–5 баллов – дыхательная недостаточность I степени; 1–3 баллов – удовлетворительное состояние новорожденного [30].

**Таблица 4.** Элементы оценки по шкале NEOMOD [72, 114]

Оцениваемые признаки	Баллы		
	0	1	2
Дыхание	Спонтанное дыхание без респираторной поддержки	Потребность в респираторной поддержке; фракция кислорода во вдыхаемом воздухе $>0,21$	ИВЛ через интубационную трубку
Сердечно-сосудистая система	Среднее (по данным суточного мониторинга) АД в пределах нормы	Необходима лекарственная терапия для поддержания адекватного среднего АД	Адекватное среднее АД не обеспечивается лекарственной терапией
Центральная нервная система	Отсутствие ВЖК или ВЖК 1-й степени	ВЖК 2-3-й степени	Кровоизлияние в паренхиму мозга, тяжелая гидроцефалия, ПВЛ, атрофия
Желудочно-кишечный тракт	Энтеральное питание или комбинация энтерального и парентерального питания	Полное парентеральное питание	Признаки НЭК, перфорация кишечника
Мочевыделительная	Диурез $>1$ мл/кг в	Диурез 0,2–1	Диурез $<0,2$

система	час	мл/кг в час	мл/кг в час
Системы гемостаза	Тромбоциты >100×10 <sup>9</sup> /л	Тромбоциты 30– 100×10 <sup>9</sup> /л	Тромбоциты <30×10 <sup>9</sup> /л
КЩС	ВЕ <7 ммоль/л	ВЕ 7–15 ммоль/л	ВЕ >15 ммоль/л

Полученные баллы оцениваются следующим образом: 0–2 балла указывает на благоприятное течение СПОН, 3 и более балла свидетельствуют о тяжелом течении СПОН, а наличие 6 и более баллов указывает на высокий риск летального исхода [106].

### 2.3.1 Инструментальное обследование детей в изучаемых группах

Для определения критериев включения пациентов в исследование (инфекционно-воспалительный процесс (пневмония, НЭК, острая респираторная вирусная инфекция (ОРВИ)); синдром системного воспалительного ответа; дыхательная недостаточность) и критериев исключения из исследования (1- синдром аспирации мекония, 2- гемолитическая болезнь новорожденных, 3- наличие комбинированных пороков развития, 4- критические ВПС, 5- задержка внутриутробного роста плода, 6- ВЖК в 1 сутки жизни) использовались общеклинические инструментальные методы: рентгенологическое исследование легких на аппарате TMS 300 (Италия) и ультразвуковое исследование (УЗИ) (нейросонография, эхокардиография, УЗИ внутренних органов) на аппарате Vivid q GE (США), датчики 12S-RS и 8C-RS.

Для изучения функции эндотелия у глубоко недоношенных детей, находящихся в тяжелом состоянии, впервые был использован инновационный метод ВАКТ. В работе использовалась методика С.Ю. Подтаева определения ВАКТ (патент «Способ диагностики нарушений эндотелиального, нейрогенного и миогенного механизмов регуляции тонуса микрососудов и электронный терморегистратор для его осуществления» RUS 2 664 626 13.10.2014), данная методика позволяет оценить состояние сосудистого тонуса в условиях тепловой пробы.

Для исследования использован прибор «Микротест» (разрешение Росздравнадзора РУ № ФСР 2012/14175), который измеряет кожную температуру

с разрешением  $0,001^{\circ}\text{C}$ . Для защиты датчика, регистрирующего кожную температуру, от влияния внешних конвективных тепловых потоков используется материал с низкой теплопроводностью. Сигналы с датчика температуры (терморезисторы с постоянной времени 1 с) поступают после усиления на 24-разрядный аналого-цифровой преобразователь с частотой дискретизации 200 Гц.

Регистрация температуры производится на ладонной поверхности правой кисти ребенка, измерение температуры проводится непрерывно в течение 25 минут. В процессе измерения датчик нагревается до  $40^{\circ}\text{C}$  в течение 10 минут (данная температура является безопасной, так, например, при использовании транскутанного мониторинга газов крови, производится локальное нагревание кожи до температуры  $42^{\circ}\text{C}$  в течение 3–4 часов у недоношенных детей с ЭНМТ; при искусственной вентиляции легких увлажнитель нагревает вдыхаемый ребенком воздух до  $40^{\circ}\text{C}$ ), далее нагревание отключается и температура кожи ладони снижается до исходных значений, и в течение 10 минут датчик снимает показатели базовой работы микрососудов, после чего проводится мониторинг степени восстановления работы микрососудов на базовом уровне.

Метод обратного вейвлет-преобразования представляет собой способ обработки получаемых сигналов (колебаний кожной температуры), который позволяет выделить колебания необходимого спектра. Амплитуда колебаний содержит ту же информацию, что находится в спектральной характеристике. Вклад каждого механизма регуляции сосудистого тонуса оценивается по величине среднеквадратичной амплитуды колебаний кожной температуры ( $\Delta T$ ) в исследуемом частотном диапазоне. Среднеквадратичные амплитуды колебаний оценивались в каждом частотном диапазоне (эндотелиальном, нейрогенном и миогенном) во время проведения тепловой пробы и после нормализации локальной температуры.

### **2.3.2. Лабораторная диагностика**

Для решения поставленных задач использовались общеклинические и специальные методики. У всех обследуемых пациентов определялись следующие показатели: ОАК проводился на аппарате Sysmex, модель: XN-10; общий анализ

мочи; биохимические анализы выполнялись на аппарате Beckman Coulter, модель: AU5800, использовались следующие биохимические параметры: сахар крови, АСТ, АЛТ, билирубин общий / прямой, общий белок, альбумин, СРП, креатинин, мочевины, калий, натрий, кальций, ПКТ, ЩФ, ГГТ.

Концентрацию VEGF, MCP-1, ИЛ-6, ИЛ-8 в сыворотке крови определяли методом ИФА с использованием соответствующих наборов реагентов (VEGF-ИФА-БЕСТ, MCP-1-ИФА-БЕСТ, Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ, Интерлейкин-8-ИФА-БЕСТ) ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) и использованием спектрофотометра X Mark BIO RAD.

Для определения уровней VEGF, MCP-1, ИЛ-6, ИЛ-8 методом ИФА производился забор крови объемом 1,5 мл из периферической вены, до кормления, в вакуумные пробирки «improvacuter» с активатором свертывания. Для получения сыворотки крови проводилось ее центрифугирование (2000 оборотов в минуту, 15 мин), далее сыворотка хранилась в эппендорфах при температуре -77 °С.

### **2.3.3. Выделение ДНК методом экстракции фенол-хлороформом из пятен крови, высушенных на фильтровальной бумаге**

Метод изучения полиморфизмов генов у детей и матерей включал сбор биологического материала, который осуществлялся нанесением крови пациента на фильтровальную бумагу, после чего образцы крови хранились в морозильной камере при температуре -18 °С. Для проведения исследования пятна крови были доставлены курьерской доставкой с соблюдением холодовой цепи в ООО «Синтол», где было выполнено выделение ДНК и определение наличия полиморфизмов генов.

### **2.4. Методы статистической обработки результатов исследования**

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью встроенного пакета анализа программы Excel® 2016 MSO, авторского (© В.С. Шелудько, 2001–2016) пакета прикладных электронных таблиц (ППЭТ)

«Stat2015». Отдельные расчеты проводились в программе MedCalc® 15.8 Portable [87].

Для анализа количественных признаков при отклонении от нормального распределения применялся расчет медианы ( $Me$ ) и квартили ( $Q_1, Q_3$ ). При оценке статистической достоверности различий ( $p$ ) в условиях отсутствия нормального распределения применялись U-критерий Манна-Уитни ( $U$ ), Краскела-Уоллиса ( $H$ ) и Хи-квадрат. Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Зависимость между количественными признаками оценивалась с помощью коэффициента корреляции Спирмена ( $r$ ), между качественными признаками – с помощью коэффициента сопряженности Пирсона ( $Ki$ ). Корреляция считалась статистически достоверной при  $p < 0,05$ . Выборочные средние представлены в виде доверительных (95%) интервалов:  $Me (Q_1-Q_3)$ .

Проведен ROC анализ и анализ выживаемости Каплан-Мейера. ROC-кривая позволяет изучить зависимость положительных примеров от количества отрицательных примеров. Сравнение двух и более тестов проводится с учетом площади под кривыми (AUC) [11]. Оценка Каплана-Мейера – это множительный непараметрический метод составления таблиц выживания или смертности. Данный метод позволяет оценить суммарную функцию выживания в каждом случае исхода. Этот метод был предложен статистиками Е.Л. Капланом и Полем Мейером в 1958 г. [63].

### Глава 3. Клинико-лабораторные показатели и маркеры эндотелиальной дисфункции у недоношенных детей с тяжелыми состояниями в неонатальном периоде

#### 3.1. Особенности клинико-лабораторных показателей и результатов инструментального обследования

Из анамнестических данных исследуемых детей известно, что у всех матерей исследуемых пациентов отмечался отягощенный акушерско-гинекологический анамнез, наиболее частыми причинами неблагоприятного течения беременности являлись: преэклампсия, патология последа (отслойка и изменение плаценты, нарушение маточно-плацентарного кровотока), кесарево сечение, отягощенный инфекционный анамнез), дородовое излитие околоплодных вод (Таблица 5). Многие женщины имели в анамнезе аборт и выкидыши, гинекологические заболевания, беременность протекала с угрозой выкидыша.

**Таблица 5.** Частота встречаемости показателей отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза у матерей, абс. (%)

Показатели	1 группа n= 24	2 группа n= 9	3 группа n= 8
Аборты	8 (33)	7 (78)	5 (63)
Выкидыши, замершие и внематочные беременности	14 (58)	5 (56)	4 (50)
Преэклампсия	5 (21)	3 (33)	0
Хориоамнионит	3 (13)	2 (22)	3 (38)
Дородовое излитие околоплодных вод	8 (33)	7 (78)	5 (63)

Практически у всех глубоко недоношенных детей имеются осложнения основного заболевания, такие как дыхательная недостаточность различной степени тяжести, транзиторная дисфункция миокарда, геморрагический синдром, в виде легочного и желудочно-кишечного кровотечения, почечная недостаточность. Тяжесть состояния детей значительно усугубляется недоношенностью и морфофункциональной незрелостью внутренних органов. В исследовании приняло участие 26 детей с ЭНМТ и 15 детей с ОНМТ. Дети с ЭНМТ относятся к самой сложной категории больных. Дети с ЭНМТ и ОНМТ

требуют проведения интенсивной терапии, тщательного и длительного выхаживания.

Практически у всех детей, участвующих в исследовании, в первые сутки жизни кожные покровы имели розовый или эритематозный цвет. Глубоко недоношенные дети термолабильны, в связи с чем выхаживаются в кувезах, позволяющих задавать необходимые параметры температуры и влажности для поддержания физиологических значений температуры тела.

Крайне сложно оценить ясность сознания у глубоко недоношенных детей, однако при нарастании тяжести состояния происходило полное угнетение сознания. Выраженная незрелость головного мозга у исследуемых детей проявлялась снижением рефлексов и тонуса мышц, а при нарастании тяжести состояния происходило их значительное угнетение. Гибель детей в 3 группе происходила на фоне комы III степени, клинически проявляющейся отсутствием сознания, рефлексов, тонуса, реакции зрачков на свет.

Аускультативно выслушивалось жесткое дыхание, практически у всех детей имелись хрипы (влажные, проводные и крепитирующие). В ОРИТ все дети поступили с диагнозом РДС, осложненным дыхательной недостаточностью 2 и 3 степени тяжести. Потребность в эндотрахеальном введении сурфактанта отмечалась у 17 детей (70,8%) 1 группы и у всех детей 2 и 3 группы. В 1 группе при поступлении в ОРИТ у 13 детей (54,2%) наблюдалась клиническая картина РДС с ДН, которым потребовалась неинвазивная дыхательная поддержка – NCPAP, DUOPAP и у 11 детей (45,8%) РДС с ДН 3 степени тяжести, что потребовало проведение инвазивной ИВЛ. Во 2 и 3 группах у всех детей наблюдалась клиника РДС с ДН 3 степени тяжести, в связи с чем понадобилось проведение ИВЛ с рождения. Средняя продолжительность аппаратной респираторной поддержки в 1 группе составила 16 дней, во 2 группе – 27 дней, в 3 группе 16 дней (Таблица 6).

Известно, что большинство глубоко недоношенных детей имеют врожденные инфекции (бактериальные, вирусные), наиболее частым проявлением которых является врожденная пневмония [75]. Рентгенологическое обследование

у всех детей проводилось в 1 и 3 сутки жизни для исключения или подтверждения диагноза врожденная пневмония, с учетом клинико-лабораторных данных.

Глубокая незрелость сердечно-сосудистой системы в сочетании с гипоксическим повреждением и инфекционным процессом не редко приводила к проявлению транзиторной дисфункции миокарда, вплоть до сердечно-сосудистой недостаточности. Для поддержания адекватной гемодинамики, с рождения в инотропной поддержке нуждались 11 детей (45,8%) 1 группы, 7 детей (77,8%) 2 группы, 8 детей (100%) 3 группы.

Одним из осложнений в неонатальном периоде у глубоко недоношенных детей является НЭК [75]. Частыми клиническими проявлениями НЭК были: вздутие живота, ослабление перистальтики кишечника, контурированные кишечные петли, застой в желудке смеси или грудного молока, наличие желчи в желудочном содержимом. Для подтверждения диагноза НЭК дополнительно проводилось ультразвуковое и рентгенологическое обследование брюшной полости, с последующей консультацией хирурга. У всех детей на фоне НЭК полностью отменялось энтеральное кормление, и такие дети переводились на полное парентеральное питание (Таблица 6).

У глубоко недоношенных детей на тяжесть состояния достаточно часто влияет ППЦНС как гипоксического, травматического, так и инфекционного генеза. Все дети были консультированы неврологом. ППЦНС был поставлен у всех исследуемых пациентов. Однако частота встречаемости церебральной ишемии I, II и III степени в исследуемых группах различна.

Одним из критериев исключения из исследования являлось ВЖК при рождении, однако ВЖК, которое происходило через несколько дней после рождения, не являлось причиной для исключения из исследования такого ребенка (Таблица 6).

Потребность в проведении гемотрансфузии в первые сутки жизни отмечалась только у 1 пациента 3 группы. Однако потребность в проведении гемотрансфузии в первые 3 суток наблюдалось у 3 детей 2 группы и 4 детей 3

группы. ДВС синдром в неонатальном периоде отмечался у 10 детей, по 3 ребенка в 1 и 2 группах и 4 – в 3 группе.

**Таблица 6.** Частота встречаемости различных заболеваний у детей исследуемых групп, абс. (%)

Показатели	1 группа n= 24	2 группа n= 9	3 группа n= 8
РДС	24 (100)	9 (100)	8 (100)
Врожденная пневмония	18 (75)	9 (100)	8 (100)
НЭК	5 (21)	0	2 (25)
ВЖК I степени	1 (4)	2 (22)	2 (25)
ВЖК II степени	0	5 (6)	0
ВЖК III степени	1 (4)	0	3 (38)

Анализ состояния пациентов при рождении выявил статистические различия, в том числе в маркерах ССВО, представленные в таблице 7.

**Таблица 7.** Сравнительный анализ показателей на 1 сутки жизни у детей с учетом тяжести состояния в исследуемых группах, с использованием Н-критерия Краскела-Уоллиса, Me (xJ-xK) (95%-ный доверительный интервал)

Показатели	1 группа (n= 24)	2 группа (n= 9)	3 группа (n= 8)	H	P
Оценка по шкале НЕОМОД в 1 сутки (балл)	2 (2–4)*	4 (3–4)	4 (4–5)***	9,7958	0,0075
Диурез (мл/кг/час)	3,80 (3,00–5,00)	5,30 (3,50–7,10)	5,50 (4,00–8,00)***	6,1113	0,0471
pH	7,34 (7,30–7,36)	7,29 (7,24–7,34)	7,23 (7,15–7,32)***	6,6039	0,0368
Лактат (мкмоль/л)	1,20 (0,69–2,10)*	3,15 (2,70–4,20)	2,78 (0,83–5,84)	6,3460	0,0419
Эритроциты ( $10^{*12}$ /л)	4,26 (3,93–4,47)	4,17 (3,42–4,45)	3,72 (3,47–4,18)***	6,7763	0,0338
Гемоглобин (г/л)	157,50 (144,00–169,00)	150,00 (132,00–162,00)	139,50 (130,00–148,00)***	7,8199	0,0200
Гликемия (ммоль/л)	2,45 (1,80–2,90) *	4,60 (3,20–9,30)	3,70 (2,30–4,50)***	16,5028	0,0003
Общий белок (г/л)	36,00 (34,00–38,00)	36,00 (34,00–42,80)**	33,00 (30,00–35,00)***	8,0672	0,0177
Альбумин в крови	27,00	28,00	23,80 (15,00–	6,3843	0,0411

(г/л)	(25,00– 30,00)	(22,40– 29,20)	26,50)***		
ИЛ-8 (пг/мл)	61,60 (43,60– 102,60)	54,90 (13,20– 184,70)**	202,30 (126,40– 235,60)***	8,7416	0,0126

*Примечание:* Отмеченное в таблице значение  $P$  указывает на достоверное различие между всеми тремя группами, а достоверные различия между группами отмечены «\*».

\* Различия первой и второй группы статистически значимы по  $U$ -критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

\*\* Различия второй и третьей группы статистически значимы по  $U$ -критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

\*\*\* Различия первой и третьей группы статистически значимы по  $U$ -критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

Тяжесть состояния по шкале NEOMOD в исследуемых группах значительно отличалась ( $N=9,796$ ;  $p=0,0075$ ). При этом при попарном сравнении статистически достоверные отличия были обнаружены между 1 и 2 группами ( $U=59,5$ ;  $p=0,0499$ ) и 1 и 3 группами ( $U=32,5$ ;  $p=0,0057$ ). По темпу диуреза группы также отличались ( $N=6,11$ ;  $p=0,047$ ). При попарном сравнении групп в исследовании темпа диуреза статистически достоверное различие обнаружено между 1 и 3 группами ( $U=40,5$ ;  $p=0,02$ ), при этом более высокие темпы ( $Me (xJ-xK) - 5,5 (4-8)$  мл/кг/час) наблюдались в группах детей, находящихся в более тяжелом состоянии. В группах детей с более выраженной степенью тяжести состояния обнаружены более высокие показатели лактата в крови ( $N=6,346$ ,  $p=0,0419$ ) и рН ( $N=6,6$ ,  $p=0,037$ ) (Таблица 7).

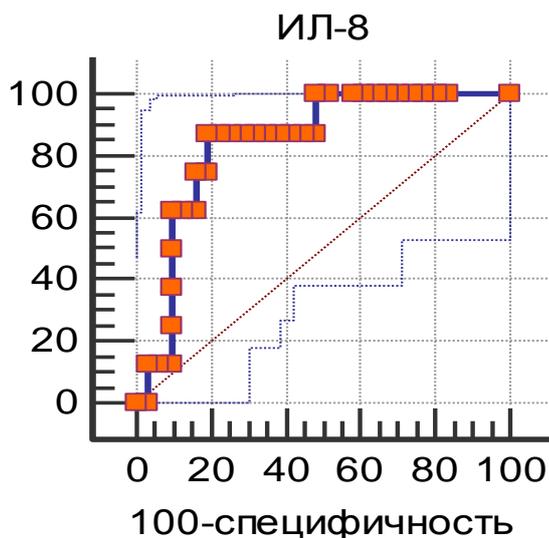
При анализе показателей ОАК в исследуемых группах в первые сутки жизни обнаружено различие в количестве эритроцитов ( $N=6,78$ ,  $p=0,033$ ) и гемоглобина ( $N=7,82$ ,  $p=0,02$ ). Более низкие показатели отмечались в группах с более тяжелым состоянием, оцениваемым по шкале NEOMOD. Исследование биохимических показателей при рождении также выявило различия в концентрации глюкозы в крови ( $N=16,5$ ,  $p=0,0003$ ), общего белка ( $N=8,067$ ,

$p=0,0177$ ) и альбумина ( $N=6,38$ ,  $p=0,041$ ), при этом более низкие значения протеинемии и альбуминемии наблюдались в 3 группе, что свидетельствует о более высоких потребностях или потерях белка у детей, находящихся в более тяжелом состоянии. Гипогликемия наблюдалась только в 1 группе (Me (xJ-xK) – 2,45 (1,80–2,90) ммоль/л), в отличие от 2 и 3 групп.

В первые сутки жизни уровень ИЛ-8 у детей 3 группы (с последующим летальным исходом) Me (xJ-xK) – 202,30 (126,40–235,60) статистически значимо превышал значения данного показателя пациентов 1 группы Me (xJ-xK) – 61,60 (43,60–102,60) ( $U=26$ ;  $p=0,0036$ ) и 2 группы Me (xJ-xK) – 54,90 (13,20–184,70) ( $U=13$ ;  $p=0,0269$ ) (Таблица 7).

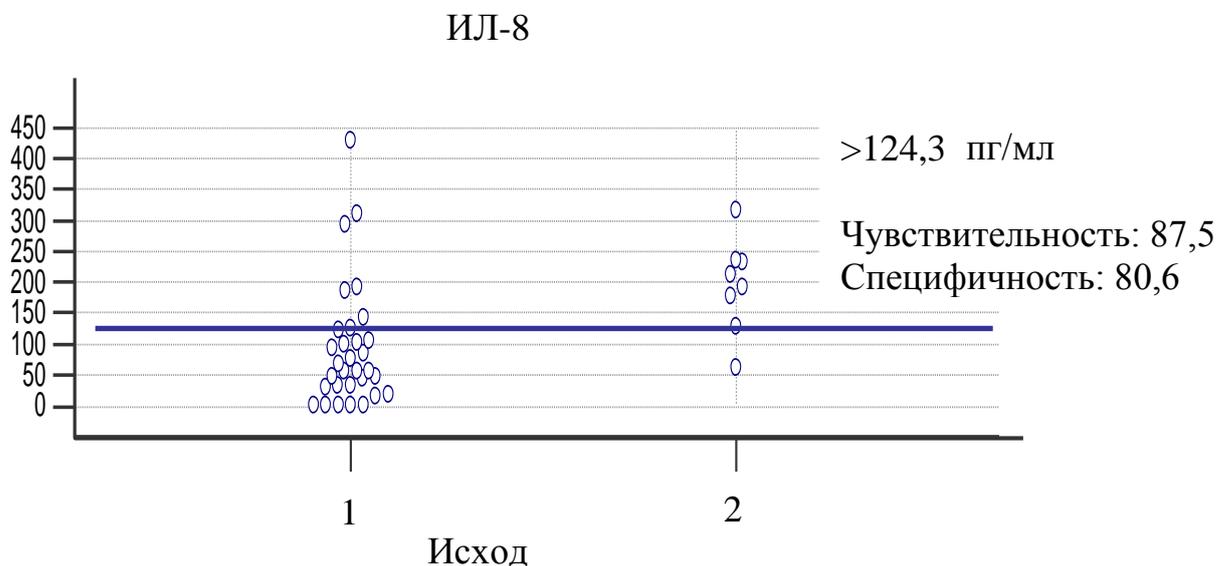
Таким образом обнаружено, что количество эритроцитов, гемоглобина, гипопроteinемия, альбуминемия, ИЛ-8 и темп диуреза в 1-е сутки жизни достоверно отличаются в исследуемых группах, поделенных по результатам оценки полиорганной дисфункции по шкале NEOMOD, на 7 сутки жизни.

Проведен ROC анализ и анализ выживаемости Каплан-Мейера по уровню ИЛ-8 в 1 сутки жизни. Расчеты исследования приведены в Приложении 1. Полученные результаты представлены в рисунках 3–5.



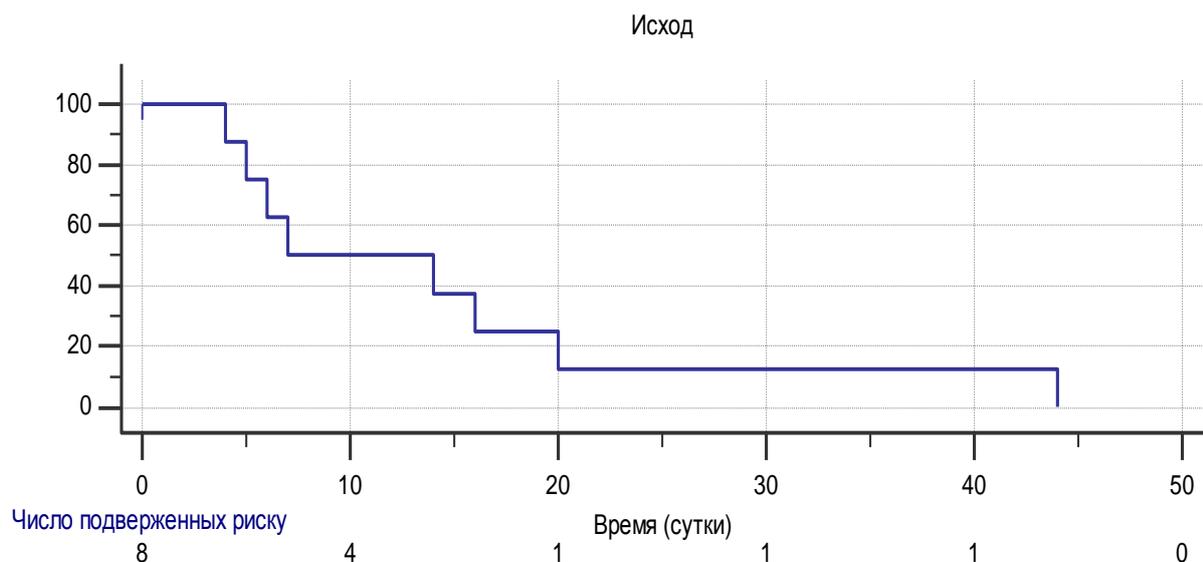
**Рис. 3.** График ROC кривой зависимости чувствительности от специфичности по уровню ИЛ-8 в 1 сутки жизни

По результатам ROC анализа определена точка разделения для выявления группы детей с высоким риском летального исхода при концентрации ИЛ-8 более 124 пг/мл в 1 сутки жизни (Рисунок 4).



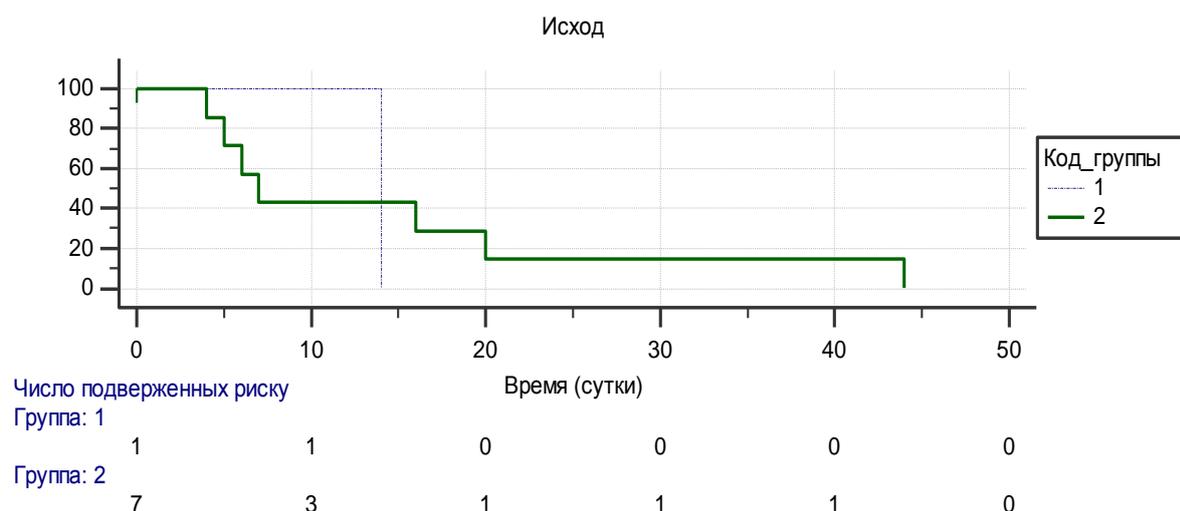
**Рис. 4.** Точка разделения по уровню ИЛ-8 (>124,3 пг/мл) в крови у новорожденных детей в первые сутки. В 1 группу вошли дети с благоприятным исходом, а во 2 группу – умершие в ОРИТ

С учетом полученной точки разделения уровня ИЛ-8 (>124,3 пг/мл) в крови у новорожденных детей в первые сутки жизни, проведен анализ выживаемости. Метод оценки Каплан-Мейера подтвердил длительно сохраняющийся высокий риск летального исхода в зависимости от уровня ИЛ-8 в 1 сутки жизни (Рисунок 5).



**Рис. 5.** Кривая Каплан-Мейера зависимости выживаемости от суток жизни в зависимости от уровня ИЛ-8 в 1 сутки

Все дети, умершие в ОРИТ, были разделены на две подгруппы по уровню ИЛ-8. В 1 группу вошли дети с уровнем ИЛ-8  $\leq 124,3$  пг/мл, а во 2 – ИЛ-8  $> 124,3$  пг/мл (Рисунок 6). Кривая Каплан-Мейера подтверждает более длительный период риска летального исхода у детей имеющих уровень ИЛ-8  $> 124,3$  пг/мл.



**Рис. 6.** Зависимость выживаемости от суток жизни по группам сравнения Каплан-Мейера

Анализ особенностей клинико-лабораторных показателей в 3 сутки жизни выявил статистические различия, представленные в таблице 8.

**Таблица 8.** Сравнительный анализ показателей на 3-е сутки жизни у детей с учетом тяжести состояния в исследуемых группах, с использованием Н-критерия Краскела-Уоллиса, Me (xJ-xK) (95%-ный доверительный интервал)

Показатели	1 группа (n= 24)	2 группа (n= 9)	3 группа (n= 8)	Н	Р
Оценка по шкале NEOMOD (балл)	1,50 (1–2)*	4 (2–4)	4,5 (3–8)***	18,1236	0,0001
FiO <sub>2</sub> (%)	25 (21–32)*	33 (28–38)	32,5 (25–50)	7,2261	0,0270
Эритроциты (10 <sup>*12</sup> /л)	4,79 (4,64–5,06)*	3,89 (3,49–4,45)	3,34 (2,40–4,23)***	18,2030	0,0001
Гемоглобин (г/л)	177,0 (161,0–190,0)*	146,0 (124,0–155,0)	116,0 (86,0–173,0)***	17,5320	0,0002
Гематокрит (%)	52,2 (49,7–55,2)*	41,8 (38,1–48,6)	35,7 (27,7–49,7)***	16,8034	0,0002
Сегментоядерные нейтрофилы (%)	49,5 (42,0–62,0)	64,0 (43,0–71,0)**	36,0 (28,0–54,0)	7,6757	0,0215
Миелоциты (%)	0,0 (0–1)*	2,0 (0–15)	3,5 (0–13)***	10,5305	0,0052
Лактат (мкмоль/л)	0,85 (0,55–1,24)	1,35 (0,54–1,58)	2,43 (1,25–5,08)***	9,9802	0,0068
Конъюгированный билирубин (мкмоль/л)	4,45 (4,20–5,00)	5,80 (4,00–8,60)	8,35 (4,80–9,70)***	7,3306	0,0256

*Примечание:* Отмеченное в таблице значение Р указывает на достоверное различие между всеми тремя группами, а достоверные различия между группами отмечены «\*».

\* Различия первой и второй группы статистически значимы по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

\*\* Различия второй и третьей группы статистически значимы по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

\*\*\* Различия первой и третьей группы статистически значимы по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, можно сделать вывод, что количество гемоглобина, темп диуреза, уровень лактата, ИЛ-8 и VEGF в 1-е сутки жизни являются прогностическими маркерами тяжести состояния у глубоко недоношенных детей. Увеличение концентрации ИЛ-8 в крови в 1 сутки жизни более 124,3 пг/мл свидетельствует о высоком риске летального исхода у глубоко недоношенных детей (чувствительность 87,5%, специфичность 80,6%).

Результаты сравнительного анализа тяжести состояния по шкале NEOMOD на 3 сутки (Таблица 8) в динамике в каждой группе существенно не отличались от 1 суток ( $N=18,12$ ;  $p=0,0001$ ). При попарном сравнении статистически достоверное различие обнаружено между 1 и 2 группами ( $U=32$ ;  $p=0,0021$ ) и 1 и 3 группами ( $U=14,5$ ;  $p=0,0004$ ).

Так же, как и в первые сутки, сравниваемые группы достоверно отличались по показателям красной крови: эритроциты ( $N=18,02$ ;  $p=0,0001$ ), гемоглобин ( $N=17,53$ ;  $p=0,0002$ ), гематокрит ( $N=16,8$ ;  $p=0,0002$ ). На 3-е сутки появилось различие в потребности фракционной концентрации кислорода во вдыхаемой газовой смеси ( $FiO_2$ ) ( $N=7,22$ ;  $p=0,027$ ), дети, находящиеся в более тяжелом состоянии, требовали более высокий процент кислорода во вдыхаемой воздушной смеси. Также у них отмечались более высокие показатели лактата в крови ( $N=9,98$ ;  $p=0,0068$ ), что свидетельствует о нарастании тканевой гипоксии. При попарном сравнении достоверные различия обнаружены в 1 и 3 группе ( $U=4,0$ ;  $p=0,0021$ ), что также может указывать на нарастание тканевой гипоксии.

Сравнительный анализ лейкоцитарной формулы 3 суток жизни также выявил различие в количестве миелоцитов ( $N=10,53$ ;  $p=0,0052$ ) и процентном соотношении сегментоядерных нейтрофилов ( $N=7,68$ ;  $p=0,022$ ). По сравнению с 1 группой количество миелоцитов во 2 ( $U=45,5$ ;  $p=0,0115$ ) и 3 ( $U=37$ ;  $p=0,0102$ ) группах достоверно больше, что может указывать на инфекционную причину тяжести состояния. При попарном сравнении количества сегментоядерных нейтрофилов различие обнаружено между 2 и 3 группами ( $U=7,5$ ;  $p=0,0061$ ).

Сравнительный анализ клинико-лабораторных маркеров ССВО и цитокинового профиля выявил достоверные различия, представленные в таблице 9.

**Таблица 9.** Сравнительный анализ показателей на 7-е сутки жизни у детей с учетом тяжести состояния в исследуемых группах, с использованием Н-критерия Краскела-Уоллиса, Me (xJ-xK) (95%-ный доверительный интервал)

Показатели	1 группа (n= 24)	2 группа (n= 9)	3 группа (n= 8)	H	P
Лактат (мкмоль/л)	0,82 (0,64– 1,16)	0,67 (0,20– 1,00)**	1,36 (1,02– 5,70)***	8,9416	0,0114
Лейкоциты (10 <sup>*9</sup> /л)	12,95 (11,5– 18,0)	22,70 (9,4– 43,3)	24,95 (18,7– 67,4)***	9,2546	0,0098
Эозинофилы (%)	6,5 (3–8)	2,0 (1–11)	0,0 (0– 5)***	8,9285	0,0115
Сегментоядерные нейтрофилы (%)	28,0 (24– 39)*	51,0 (41– 69)	64,0 (41– 80)***	14,7629	0,0006
Лимфоциты (%)	44,0 (39– 50) *	26,0 (15– 38)	16,0 (9–40) ***	15,5419	0,0004
Общий белок (г/л)	43,0 (41,0– 47,0)*	39,0 (34,0– 41,0)	33,0 (31,0– 41,0)***	15,2945	0,0005
Креатинин (мкмоль/л)	58,0 (43,0– 64,0)	37,0 (28,0– 60,0)	22,0 (15,0– 52,0)***	7,6199	0,0221
ВАКТ	1,05 (0,89– 1,20)	1,20 (0,88– 1,40)**	2,00 (1,00– 4,30) ***	6,0343	0,0489
ИЛ-8 (пг/мл)	29,70 (23,6– 46,2)	24,00 (18,0– 66,8)**	85,90 (26,9– 162,3)***	7,4173	0,0245
ИЛ-6 (пг/мл)	0,0 (0,0– 5,9)	7,4 (0,0– 31,3)	20,65 (0,0– 73,0)***	6,8134	0,0332

*Примечание:* Отмеченное в таблице значение P указывает на достоверное различие между всеми тремя группами, а достоверные различия между группами отмечены «\*».

\* Различия первой и второй группы статистически значимы по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

\*\* Различия второй и третьей группы статистически значимы по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

\*\*\* Различия первой и третьей группы статистически значимы по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

В конце раннего неонатального периода (Таблица 9) в изучаемых группах обнаружено различие в количестве лейкоцитов ( $H=9,25$ ;  $p=0,098$ ), процентном содержании эозинофилов ( $H=8,93$ ;  $p=0,0115$ ), сегментоядерных нейтрофилов ( $H=14,76$ ;  $p=0,0006$ ), лимфоцитов ( $H=15,54$ ;  $p=0,0004$ ). При попарном сравнении в 3 группе по сравнению с 1 группой наблюдались достоверно более высокие показатели лейкоцитоза ( $U=16$ ;  $p=0,0037$ ) и сегментоядерных нейтрофилов ( $U=10$ ;  $p=0,0013$ ), а показатели эозинофилов ( $U=17$ ;  $p=0,0043$ ) и лимфоцитов ( $U=9,5$ ;  $p=0,0012$ ) имели достоверно более низкие значения.

Сравнение биохимических показателей на 7-е сутки жизни выявило различие в количестве общего белка ( $H=15,29$ ;  $p=0,0005$ ) и креатинина ( $H=7,62$ ;  $p=0,0221$ ). При попарном сравнении групп достоверные различия обнаружены между 3 и 1 группами. В 3 группе наблюдались более низкие значения общего белка ( $U=8$ ;  $p=0,003$ ) и креатинина ( $U=14,5$ ;  $p=0,0115$ ). Обнаружено различие в показателях лактата ( $H=8,94$ ;  $p=0,0114$ ) и амплитуды изменения кожной температуры в эндотелиальном диапазоне регуляции микроциркуляции ( $H=6,03$ ;  $p=0,0489$ ). Более высокие показатели лактата обнаружены в 3 группе по сравнению с 1 ( $U=5$ ;  $p=0,0084$ ) и 2 ( $U=0$ ;  $p=0,0143$ ) группами, что указывает на прогрессирующий процесс нарастания тканевой гипоксии на фоне тяжелого состояния. Достоверно более высокие значения амплитуд колебания кожной температуры в эндотелиальном диапазоне без проведения тепловой пробы (в покое) отмечалось в 3 группе по сравнению с 1 ( $U=21,00$ ;  $p=0,0243$ ) и 2 группами ( $U=5,50$ ;  $p=0,0234$ ).

Известно, что ИЛ-8 является одним из интегральных факторов, указывающих на активацию нейтрофилов. Наше исследование позволило выявить

прогрессирующее увеличение уровня ИЛ-8 к 7 суткам жизни ( $H=7,417$ ;  $p=0,025$ ) у детей, находящихся в 3 группе, по сравнению с 1 ( $U=20$ ;  $p=0,0083$ ) и 2 ( $U=8$ ;  $p=0,0251$ ) группами (Таблица 9). При концентрации ИЛ-8 в крови в 1 сутки жизни более 124,3 пг/мл свидетельствует о высоком риске летального исхода (чувствительность 87,5%, специфичность 80,6%). В исследуемых группах на 7-е сутки жизни провоспалительный цитокин ИЛ-6 имел достоверные различия ( $H=6,8134$ ;  $p=0,0332$ ). Обнаружена достоверно более высокая концентрация ИЛ-6 в 3 группе по сравнению с 1 группой ( $U=27$ ;  $p=0,0196$ ).

Таким образом, ИЛ-6 и ИЛ-8 на 7 сутки жизни могут рассматриваться как маркеры тяжести состояния.

Сравнительный анализ клинико-лабораторных маркеров ССВО и цитокинового профиля в 1 и 2 группах выявил достоверные различия некоторых показателей, представленных в таблице 10.

**Таблица 10.** Сравнительный анализ показателей на 28-е сутки жизни у детей с учетом тяжести состояния в исследуемых группах с использованием U-критерия Манна-Уитни, Me (xJ-xK) (95%-ный доверительный интервал)

Показатели	1 группа	2 группа	U	p
Оценка по шкале NEOMOD (балл)	0 (0–0)	1 (1–3)	29,50	0,0015
Лейкоциты ( $10^9/л$ )	11,35 (10,0–12,6)	16,10 (9,30–26,70)	59,50	0,0499
Моноциты (%)	8,5 (8–10)	13 (11–16)	56,00	0,0356
Общий белок (г/л)	42,0 (39,0–46,0)	36,0 (34,1–42,2)	47,50	0,0189

В связи с гибелью практически всех пациентов 3 группы к 28 суткам, сравнительный анализ на 28 сутки жизни проводился только в 1 и 2 группах по U-критерию Манна-Уитни ( $U$ ).

Практически у всех пациентов к концу неонатального периода (28 суток) тяжесть состояния по шкале NEOMOD составила менее 3 баллов. Однако обнаружено, что во 2 группе по сравнению с 1 группой наблюдались более высокие показатели лейкоцитоза ( $U=59,5$ ;  $p=0,0499$ ), моноцитоза ( $U=56$ ;  $p=0,0356$ ) и низкие показатели общего белка ( $U=47,5$ ;  $p=0,0189$ ) (Таблица 10).

Анализ групп по концентрации фактора хемотаксиса моноцитов в очаге воспаления – цитокина моноцитарного хемотаксического протеина (MCP-1), с использованием Н-критерия Краскела-Уоллиса статистически достоверных отличий не выявил. Дополнительно было проведено исследование корреляционной связи MCP-1 с другими клинико-лабораторными показателями во всей выборке пациентов. Концентрация MCP-1 в 1-е сутки жизни имеет взаимосвязь с уровнем ИЛ-6 ( $R=0,552$ ;  $p=0,0002$ ), ИЛ-8 ( $R=0,439$ ;  $p=0,0051$ ) в 1-е сутки жизни и количеством моноцитов ( $R=0,363$ ;  $p=0,0195$ ), тромбоцитов ( $R=-0,416$ ;  $p=0,0068$ ) в 3-е сутки жизни. Уровень MCP-1 к крови в 3-е сутки жизни имеет связь с оценкой тяжести состояния по шкале NEOMOD ( $R=0,402$ ;  $p=0,0092$ ), уровнем тромбоцитов ( $R=-0,416$ ;  $p=0,0068$ ), СРП ( $R=0,526$ ;  $p=0,0005$ ), ИЛ-6 ( $R=0,525$ ;  $p=0,0004$ ), ИЛ-8 ( $R=0,418$ ;  $p=0,0072$ ) на 3 сутки жизни. Концентрация MCP-1 в 7-е сутки жизни коррелировала с количеством моноцитов ( $R=0,326$ ;  $p=0,0425$ ) и уровнем ИЛ-8 ( $R=0,330$ ;  $p=0,0429$ ) в 7-е сутки жизни. Уровень MCP-1 к крови в 28-е сутки жизни имеет взаимосвязь с уровнем ИЛ-6 ( $R=0,370$ ;  $p=0,0313$ ), ИЛ-8 ( $R=0,581$ ;  $p=0,0003$ ), взятых в эти же сутки.

Существование взаимосвязи между тяжестью состояния новорожденных в конце раннего неонатального периода и клинико-лабораторными показателями явилось основной рабочей гипотезой данного исследования. Для дальнейшего создания прогностической Модели риска были изучены взаимосвязи клинических, лабораторных и инструментальных показателей в контрольных точках исследования с тяжестью состояния на 1-е и 7-е сутки жизни. Анализ взаимосвязи тяжести состояния по шкале NEOMOD в 1 сутки жизни проводился с клинико-лабораторными и инструментальными показателями на 1, 3 и 7 сутки жизни. Результаты представлены в Таблице 11.

**Таблица 11.** Взаимосвязь показателей (корреляционный анализ Спирмена) тяжести состояния по шкале NEOMOD в 1-е сутки и клинических показателей, лабораторных и инструментальных данных по всей выборке детей

<b>Исследуемые показатели</b>		<b>R</b>	<b>p</b>
Данные анамнеза	шкала Сильвермана	0,656	0,0000
	шкала Апгар	0,424	0,0064
Исследования, проведенные в 1 сутки жизни	Темп диуреза	0,356	0,0224
	Эритроциты	-0,494	0,0010
	Гемоглобин	-0,495	0,0010
	Гематокрит	-0,332	0,0340
	Лактат	0,356	0,0224
	Общий белок	-0,348	0,0259
Исследования, проведенные в 3 сутки жизни	Эритроциты	-0,454	0,0028
	Гемоглобин	-0,427	0,0053
	Гематокрит	-0,406	0,0085
	Лактат	0,545	0,0002
	Миелоциты	0,356	0,0223
	Юные нейтрофилы	0,336	0,0315
	Палочкоядерные нейтрофилы	0,341	0,0292
	Белок в общем анализе мочи (ОАМ)	0,579	0,0001
	ВАКТ в эндотелиальном диапазоне во время тепловой пробы	0,363	0,0198
Исследования, проведенные в 7 сутки жизни	Эритроциты	-0,339	0,0300
	Гемоглобин	-0,484	0,0013
	Гематокрит	-0,457	0,0027
	Лейкоциты	0,369	0,0175
	Миелоциты	0,339	0,0300
	Лимфоциты	-0,410	0,0078
	Лактат	0,566	0,0001
	Альбумин	-0,586	0,0001
	Креатинин	-0,314	0,0453
	ИЛ-8	0,320	0,0416
	ИЛ-6	0,372	0,0168
	VEGF	-0,374	0,0162

Корреляционный анализ тяжести состояния по шкале NEOMOD в 7 сутки жизни выполнен с клинико-лабораторными и инструментальными показателями на 1, 3, 7 и 28 сутки жизни. Результаты анализа представлены в Таблице 12.

**Таблица 12.** Взаимосвязь показателей (корреляционный анализ Спирмена) тяжести состояния по шкале NEOMOD в 7-е сутки и клинических показателей, лабораторных и инструментальных данных по всей выборке детей

Исследуемые показатели		R	p
Данные анамнеза	шкала Сильвермана	0,322	0,0401
Исследования, проведенные в 1 сутки жизни	Эритроциты	-0,412	0,0091
	Гемоглобин	-0,457	0,0034
	Эозинофилы	-0,389	0,0143
	Сегментоядерные нейтрофилы	-0,333	0,0384
	Лактат	0,554	0,0002
	Альбумин	-0,347	0,0305
Исследования, проведенные в 3 сутки жизни	Эритроциты	-0,712	0,0000
	Гемоглобин	-0,711	0,0000
	Гематокрит	-0,716	0,0000
	Лактат	0,804	0,0000
	Миелоциты	0,540	0,0004
	Юные нейтрофилы	0,413	0,0090
	Палочкоядерные нейтрофилы	0,486	0,0017
	Лимфоциты	-0,395	0,0129
	Белок в ОАМ	0,660	0,0000
	СРП	0,543	0,0003
	Билирубин прямой	0,671	0,0000
	Исследования, проведенные в 7 сутки жизни	Лейкоциты	0,471
Эозинофилы		-0,375	0,0187
Миелоциты		0,527	0,0006
Юные нейтрофилы		0,380	0,0170
Палочкоядерные нейтрофилы		0,507	0,0010
Сегментоядерные нейтрофилы		0,515	0,0008
Лимфоциты		-0,611	0,0000
Тромбоциты		-0,399	0,0120
Лактат		0,738	0,0000
Общий белок		-0,387	0,0150
Мочевина		0,401	0,0113
Альбумин		-0,769	0,0000
Креатинин		-0,383	0,0161
ВАКТ в эндотелиальном диапазоне без тепловой пробы		0,328	0,0415
ИЛ-8		0,627	0,0000
ИЛ-6		0,525	0,0006
VEGF		-0,480	0,0020
Исследования,	Лейкоциты	0,349	0,0295

проведенные в 28 сутки жизни	Общий белок	-0,514	0,0096
	Альбумин	-0,410	0,0096
	Креатинин	-0,370	0,0205
	VEGF	-0,356	0,0261

### 3.2. Особенности маркера ангиогенеза VEGF у недоношенных детей с тяжелыми состояниями в неонатальном периоде

В исследуемых группах достоверные различия в значениях экспрессии VEGF обнаружены на 7-е ( $H=7,0178$ ;  $p=0,0299$ ) и 28-е ( $U=53,50$ ;  $p=0,0276$ ) сутки. Более низкие значения VEGF на 7-е сутки жизни обнаружены во 2 группе Me (xJ-xK) – 351,6 (0,0–812,2) по сравнению с 1 группой Me (xJ-xK) – 881,1 (446,1–981,7) ( $U=49,0$ ;  $p=0,0171$ ) (Таблица 13). На 7-е сутки жизни показатель VEGF наиболее высоким был в 1 группе Me (xJ-xK) – 881,10 (446,10–981,70) ( $U=49,0$ ;  $p=0,0171$ ) по сравнению со 2 группой. Также на 28 сутки жизни обнаружено различие по показателям VEGF во 2 группе Me (xJ-xK) – 348,0 (16,7–528,2) по сравнению с 1 группой Me (xJ-xK) – 599,65 (439,1–841,2) ( $U=53,50$ ;  $p=0,0276$ ) (Таблица 14).

**Таблица 13.** Сравнительный анализ значений VEGF в 1, 3 и 7 сутки жизни у детей с учетом тяжести состояния в исследуемых группах, с использованием Н-критерия Краскела-Уоллиса, Me (xJ-xK) (95%-ный доверительный интервал)

Показатели	1 группа (n= 24)	2 группа (n= 9)	3 группа (n= 8)	H	p
VEGF на 1 сутки (пг/мл)	636,35 (106,70– 928,30)	365,80 (0,00– 1615,10)	996,15 (40,30– 1474,60)	0,7130	0,7
VEGF на 3 сутки (пг/мл)	482,95 (387,10– 989,10)	451,20 (35,90– 1241,30)	478,15 (0,00– 916,60)	0,9283	0,6
VEGF на 7 сутки (пг/мл)	881,10 (446,10– 981,70)*	351,60 (0,00– 812,20)	407,00 (0,00- 1034,70)	7,0178	<b><u>0,0299</u></b>

*Примечание:* Отмеченное в таблице значение P указывает на достоверное различие между всеми тремя группами, а достоверные различия между группами отмечены «\*».

\* Различия первой и второй группы статистически значимы по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

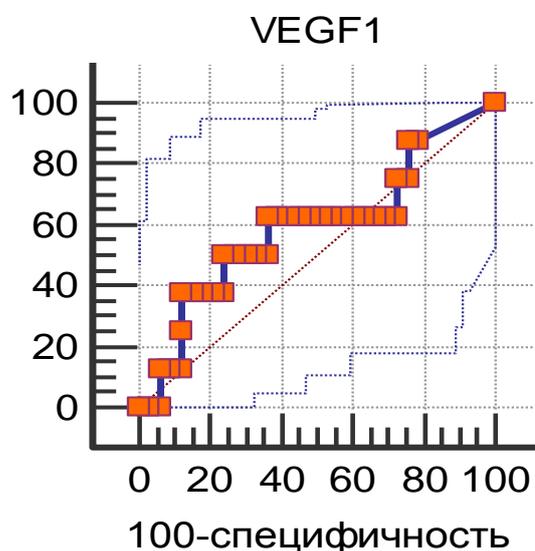
Таким образом, тенденция к снижению концентрации VEGF в крови с 1 к 7 суткам жизни наблюдается у детей с высоким риском летального исхода, а концентрация VEGF в крови на 7 сутки жизни у глубоко недоношенных детей может указывать на тяжесть состояния.

**Таблица 14.** Сравнительный анализ значений VEGF в 28 сутки жизни у детей 1 и 2 групп с учетом тяжести состояния, с использованием U-критерия Манна-Уитни, Me (xJ-xK) (95%-ный доверительный интервал)

Показатели	1 группа	2 группа	U	p
VEGF (пг/мл)	599,65 (439,10-841,20)	348,00 (16,70-528,20)	53,50	<b>0,0276</b>

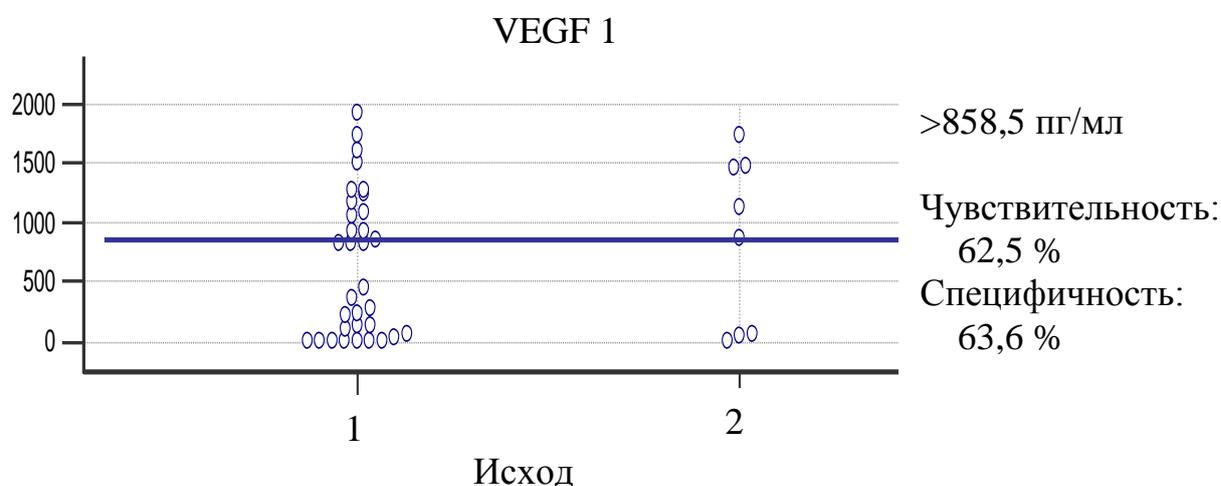
Проведен ROC анализ и анализ выживаемости Каплан-Мейера по уровню VEGF в 1, 3 и 7 сутки жизни. Расчеты исследования приведены в Приложении 2.

Анализ кривой ROC значений VEGF в 1 сутки жизни представлен на рисунке 7.



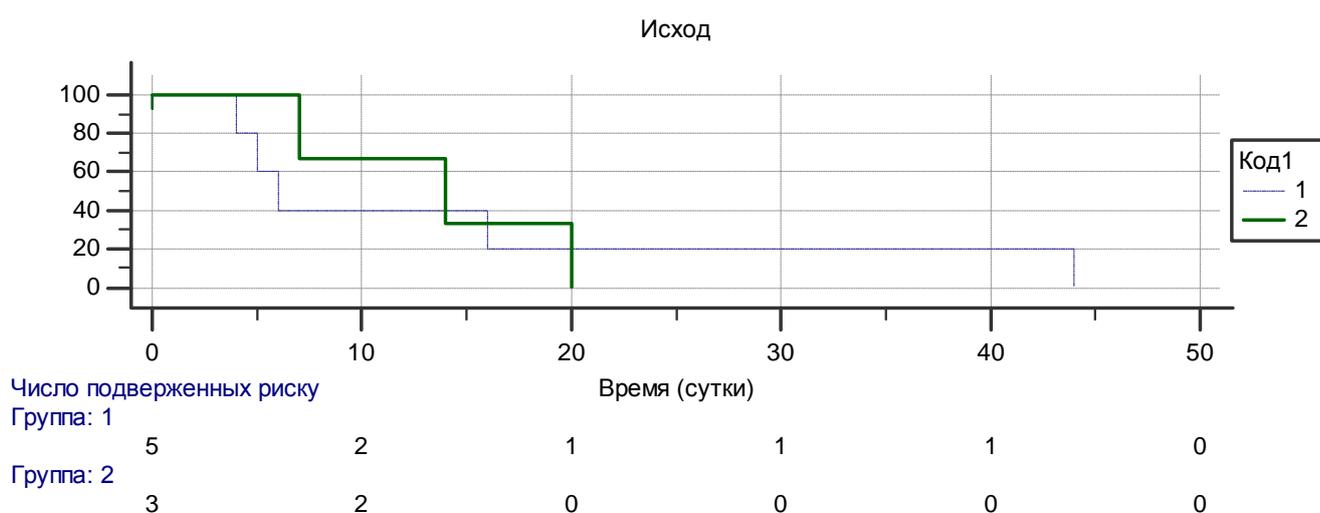
**Рис. 7.** График ROC кривой зависимости чувствительности от специфичности по уровню VEGF в 1 сутки жизни

По результатам ROC анализа определена точка разделения для выявления группы детей с высоким риском летального исхода при концентрации VEGF более 858,5 пг/мл в 1 сутки жизни (Рисунок 8).



**Рис. 8.** Точка разделения по уровню VEGF (>858,5 пг/мл) в крови у новорожденных детей в первые сутки. В 1 группу вошли дети с благоприятным исходом, а во 2 группу – умершие в ОРИТ

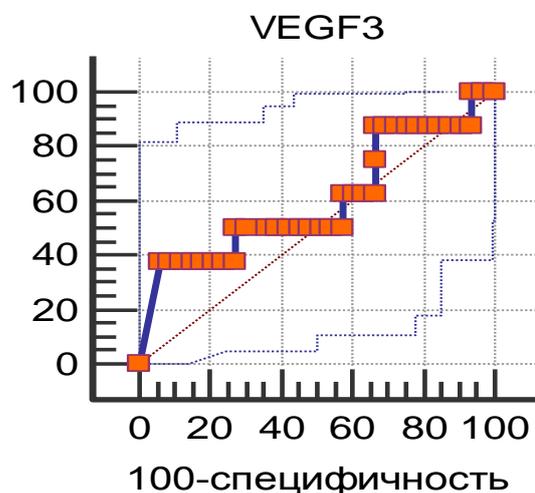
С учетом полученной точки разделения уровня VEGF в 1 сутки жизни (>858,5 пг/мл) в крови у новорожденных детей проведен анализ выживаемости Каплан-Мейера. Все дети, умершие в ОРИТ, были разделены на две подгруппы по уровню VEGF в 1 сутки жизни (Рисунок 9).



**Рис. 9.** Анализ выживаемости Каплан-Мейера (подгруппы по уровню VEGF в 1 сутки жизни). В 1 группу вошли дети с уровнем VEGF > 858,5 пг/мл, а во 2 –

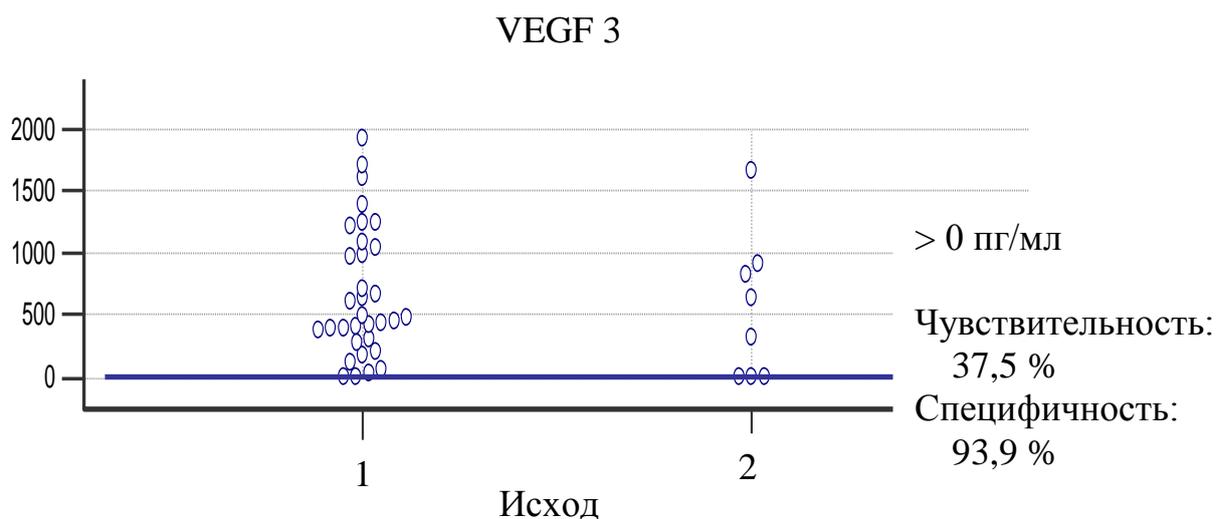
$VEGF \leq 858,5$  пг/мл. Кривая Каплан-Мейера подтверждает более длительный период риска летального исхода у детей, имеющих уровень  $VEGF > 858,5$  пг/мл

Анализ кривой ROC значений  $VEGF$  в 3 сутки жизни представлен на рисунке 10.



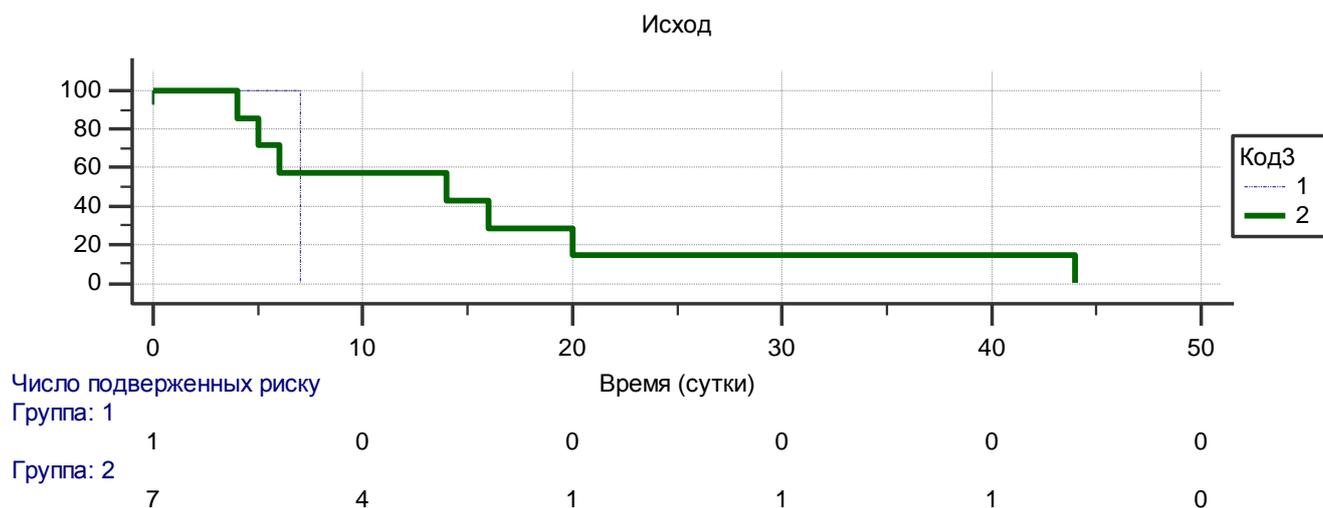
**Рис. 10.** График ROC кривой зависимости чувствительности от специфичности по уровню  $VEGF$  в 3 сутки жизни

По результатам ROC анализа определена точка разделения для выявления группы детей с высоким риском летального исхода при концентрации  $VEGF$  более 0 пг/мл в 3 сутки жизни (Рисунок 11).



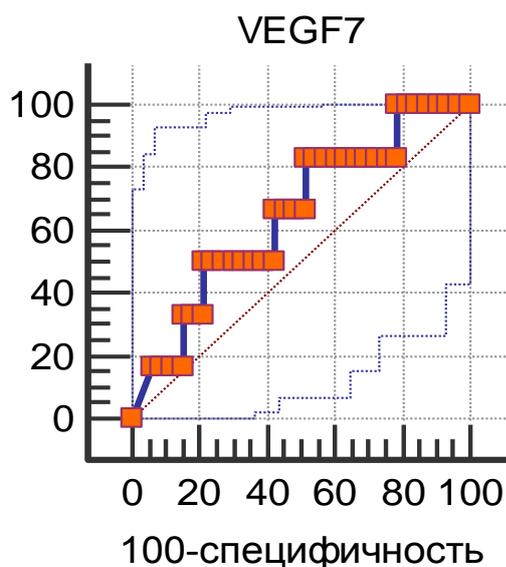
**Рис. 11.** Точка разделения по уровню  $VEGF (> 0$  пг/мл) в крови у новорожденных детей в 3 сутки. В 1 группу вошли дети с благоприятным исходом, а во 2 группу – умершие в ОРИТ

С учетом полученной точки разделения уровня VEGF на 3 сутки жизни ( $=0$ ) в крови у новорожденных детей проведен анализ выживаемости Каплан-Мейера. Умершие в ОРИТ пациенты были разделены на две подгруппы по уровню VEGF (Рисунок 12). Кривая Каплан-Мейера подтверждает более длительный период риска летального исхода у детей имеющих уровень VEGF  $> 0$  пг/мл.



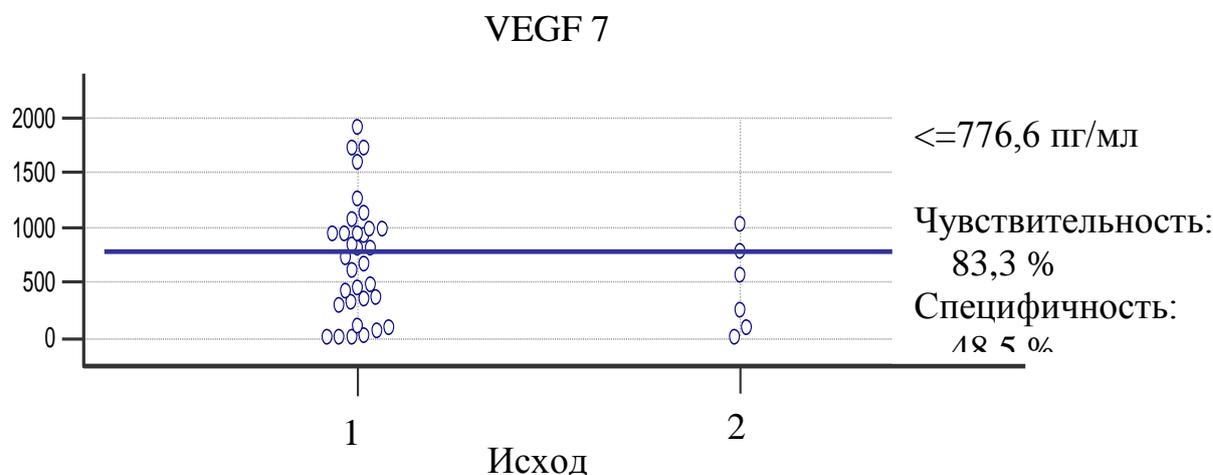
**Рис. 12.** Анализ выживаемости Каплан-Мейера (подгруппы по уровню VEGF в 3 сутки жизни). В 1 группу вошли дети с уровнем VEGF = 0 пг/мл, а во 2 – VEGF  $> 0$  пг/мл

Анализ кривой ROC значений VEGF в 7 сутки жизни представлен на рисунке 13.



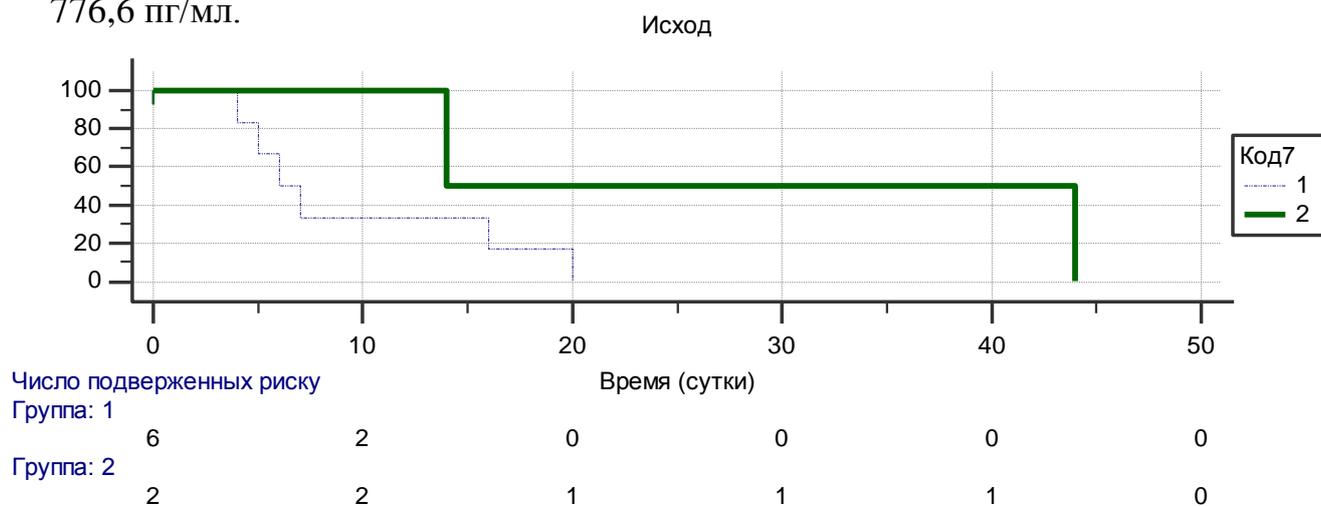
**Рис. 13.** График ROC кривой зависимости чувствительности от специфичности по уровню VEGF в 7 сутки жизни

По результатам ROC анализа определена точка разделения для выявления группы детей с высоким риском летального исхода при концентрации VEGF более 776,6 пг/мл в 7 сутки жизни (Рисунок 14).



**Рис. 14.** Точка разделения по уровню VEGF ( $\leq 776,6$  пг/мл) в крови у новорожденных детей в 7 сутки. В 1 группу вошли дети с благоприятным исходом, а во 2 группу – умершие в ОРИТ

С учетом полученной точки разделения уровня VEGF ( $\leq 776,6$  пг/мл) в крови у новорожденных детей в 7 сутки жизни проведен анализ выживаемости Каплан-Мейера. Умершие в ОРИТ пациенты были разделены на две подгруппы по уровню VEGF (Рисунок 15). Кривая Каплан-Мейера подтверждает более длительный период риска летального исхода у детей имеющих уровень VEGF  $> 776,6$  пг/мл.



**Рис. 15.** Анализ выживаемости Каплан-Мейера (подгруппы по уровню VEGF в 7 сутки жизни). В 1 группу вошли дети с уровнем VEGF  $\leq 776,6$  пг/мл, а во 2 – VEGF  $> 776,6$  пг/мл

### **3.3. Состояние эндотелиальной дисфункции у недоношенных детей с тяжелыми состояниями в неонатальном периоде**

Впервые использованная методика диагностики нарушений функции эндотелия с использованием ВАКТ с проведением тепловой пробы позволила выявить различия в особенностях эндотелиальной регуляции тонуса микрососудов. В исследуемых группах на 7 сутки жизни было обнаружено статистически достоверное различие амплитуд колебаний кожной температуры в эндотелиальном диапазоне регуляции микроциркуляции при нормальной температуре тела ( $H=6,034$ ;  $p=0,0489$ ). Обнаружены значительно более высокие показатели амплитуды изменения кожной температуры в эндотелиальном диапазоне регуляции микроциркуляции в 3 группе Me (xJ-xK) – 2,00 (1,00–4,30) по сравнению с 1 Me (xJ-xK) – 1,05 (0,89–1,20) ( $U=0$ ;  $p=0,0143$ ) и 2 Me (xJ-xK) – 1,20 (0,88–1,40) ( $U=21$ ;  $p=0,0243$ ) группами.

Исследование амплитуд колебаний кожной температуры в эндотелиальном диапазоне при физиологических значениях температуры, а также при проведении тепловой пробы в 1 и 3 сутки достоверных различий не выявило, что может указывать на морфофункциональное несовершенство работы эндотелия в регуляции микроциркуляции.

## Глава 4. Сравнительная оценка полиморфных маркеров генов с особенностями тяжелого состояния в неонатальном периоде у недоношенных детей и женщин с преждевременными родами

### 4.1. Оценка полиморфных маркеров генов у женщин, в том числе родивших на ранних сроках

На поверхности клеток гладких мышц сосудов в плаценте и матке располагаются бета-2-рецепторы, которые кодируются геном ADRB2. Одна из гипотез исследования предполагала, что аллельные особенности гена ADRB2 могут влиять на возникновение преждевременных родов, а также могут наследоваться детьми.

В нашей работе изучалась частота встречаемости аллели Arg16Gly гена ADRB2 у матерей, родивших недоношенных детей, которые включены в данное исследование, и у контрольной группы матерей, не имеющих ОАГА и родивших в срок. Выявлены статистически значимые отличия женщин, родивших преждевременно, от контрольной группы  $\chi^2 = 6,76$  ( $p < 0,034$ , скорректированный коэффициент Пирсона = 0,382) (Таблица 15). Обнаружено влияние аллели Arg16Gly гена ADRB2 у женщин на возникновение преждевременных родов. Шестипольная таблица сопряженности и таблица нулевой гипотезы приведены в Приложении 3.

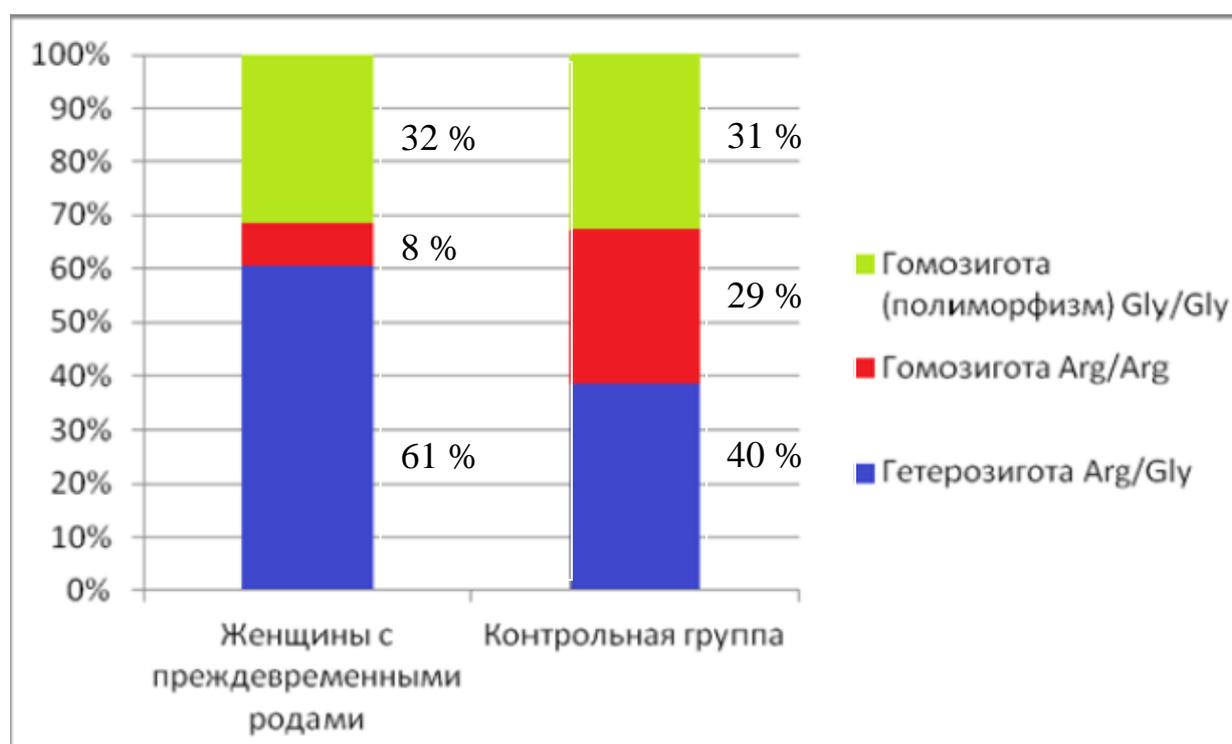
**Таблица 15.** Оценка зависимости (сопряженности) признаков

	Эмпирическое значение	Критическое значение ( $\alpha=0,05$ )	Уровень значимости (p)
Хи-квадрат	6,761	5,99	0,034
СКП	0,382		

Частота встречаемости аллели Arg16Gly гена ADRB2 у матерей, имеющих преждевременные роды, выше, чем у женщин, родивших в срок и не имеющих в анамнезе преждевременных родов (Таблица 16, Рисунок 16).

**Таблица 16.** Частота встречаемости полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 у женщин, абс.

Полиморфизм	Женщины с преждевременными родами (n=38)	Контрольная группа (n=48)
Гетерозигота Arg/Gly	23	19
Гомозигота Arg/Arg	3	14
Гомозигота (полиморфизм) Gly/Gly	12	15



**Рис. 16.** Частота встречаемости полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 у женщин

В состав контрольной группы женщин (без преждевременных родов) было включено 12 женщин, имеющих ОАГА (замершая беременность, выкидыш). В группе женщин, имеющих ОАГА, гетерозигота Arg/Gly встречалась у 3 (25%) женщин, гомозигота Arg/Arg – у 6 (50%) пациенток, а гомозигота Gly/Gly наблюдалась у 3 (25%) женщин.

Из 14 детей, рожденных от матерей с наличием полиморфизма Gly16Gly гена ADRB2, ни один ребенок данный полиморфизм не унаследовал, а гетерозигота Arg16Gly наблюдалась у 8 детей (57%).

Наличие полиморфизма Gly16Gly гена ADRB2 у матери не оказывает значимого влияния на частоту встречаемости данного полиморфизма у детей.

Одна из гипотез работы предполагала, что нарушения маточно-плацентарного кровотока вследствие влияния полиморфизма гена ADRB2 могут приводить к длительной гипоксии плода и проявляться дисфункцией органов ребенка в раннем неонатальном периоде. Нами были обнаружены корреляционные связи некоторых клинико-лабораторных показателей детей с наличием полиморфизма Gly16Gly  $\beta$ 2-адренорецептора у матери. Выявлена связь наличия полиморфизма Gly16Gly  $\beta$ 2-адренорецептора у матери с уровнем креатинина ( $R=-0,543$ ;  $p=0,0002$ ), СКФ ( $R=0,468$ ;  $p=0,0020$ ) в 1-е сутки жизни, СКФ ( $R=0,335$ ;  $p=0,0458$ ), темпом диуреза ( $R=-0,458$ ;  $p=0,0057$ ) на 7-е сутки жизни.

Таким образом, внутриутробное влияние полиморфизма гена ADRB2 матери на маточно-плацентарный кровоток может проявляться дисфункцией мочевыделительной системы ребенка в раннем неонатальном периоде.

#### 4.2. Оценка распределения частот аллелей и генотипов генов адренорецепторов ADRA2A, ADRB1 и ADRB2 и гена VEGF у детей

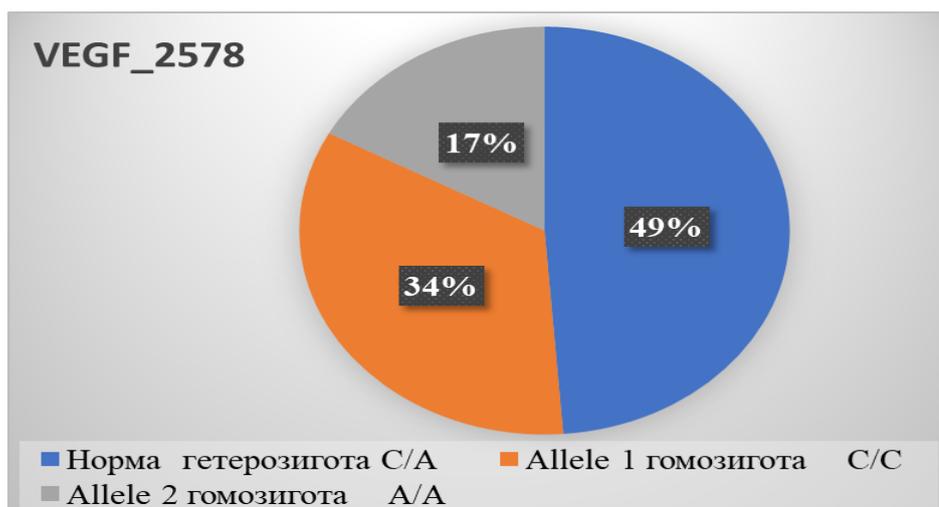
Результаты исследования частоты встречаемости полиморфизмов в гене ADRA2A, ADRB1, ADRB2 в изучаемых группах представлены в Таблице 17.

**Таблица 17.** Частота встречаемости полиморфизмов адренорецепторов в генах ADRA2A, ADRB1 ADRB2 у недоношенных детей, абс. (%)

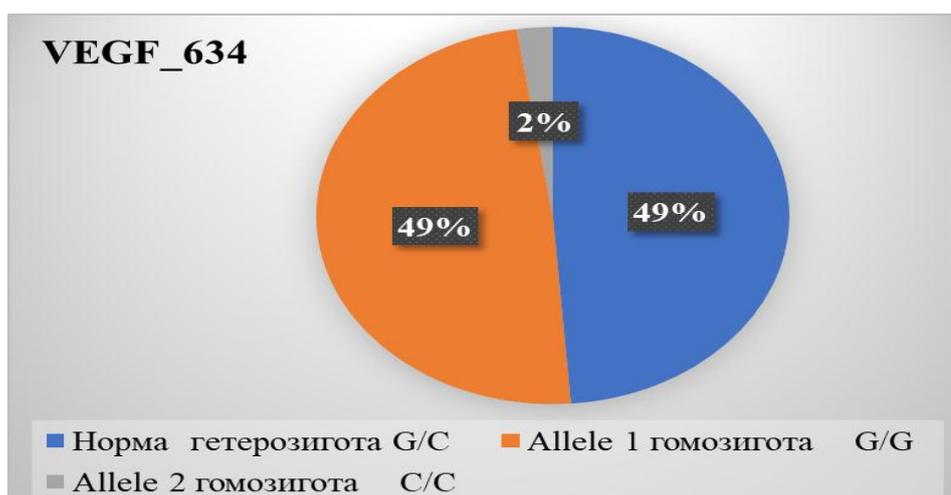
Показатели	Варианты гена	1 группа n= 24	2 группа n= 9	3 группа n= 8
ADRA2A	Гетерозигота C/Gly	7 (29)	1 (11)	1 (13)
	Гомозигота C/C	16 (67)	7 (78)	7 (88)
	Гомозигота (полиморфизм) Gly/Gly	1 (4)	1 (11)	0
ADRB1	Гетерозигота C/Gly	15 (63)	7 (78)	6 (75)
	Гомозигота C/C	4 (17)	1 (11)	0

	Гомозигота (полиморфизм) Gly/Gly	5 (21)	1 (11)	2 (25)
ADRB2	Гетерозигота Arg/Gly	11 (46)	3 (33)	4 (50)
	Гомозигота Arg/Arg	11 (46)	4 (44)	4 (50)
	Гомозигота (полиморфизм) Gly/Gly	2 (8)	2 (22)	0

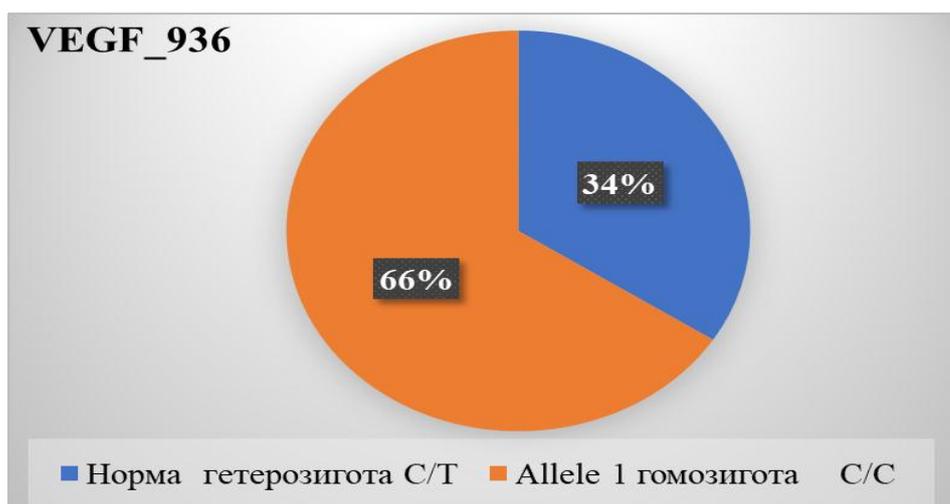
Частота встречаемости полиморфизмов C2578A, G634C, C936T гена VEGF у глубоко недоношенных детей представлена на рисунках 17–19.



*Рис. 17.* Частота встречаемости полиморфизма C2578A гена VEGF у глубоко недоношенных детей



*Рис. 18.* Частота встречаемости полиморфизма G-634C гена VEGF у глубоко недоношенных детей



**Рис. 19.** Частота встречаемости полиморфизма С936Т гена VEGF у глубоко недоношенных детей

Доля детей с полиморфизмами составила:

- ген ADRA2A полиморфизм С1291G – 2 ребенка – 4,88%,
- ген ADRB1 полиморфизм Gly389Arg – 7 детей – 17,07%,
- ген ADRB2 полиморфизм Arg16Gly – 5 детей – 12,88%,
- гена VEGF полиморфизм С2578А – 7 детей – 17,07%,
- гена VEGF полиморфизм G634С – 1 ребенок – 2,44%,
- гена VEGF полиморфизм С936Т – 0 детей.

В генетической структуре полиморфизмов достоверных различий не обнаружено (см. Таблицы 18-29)

**Таблица 18.** Таблица сопряженности полиморфизма С1291G гена ADRA2A в исследуемых группах

	<b>Норма гетерозигота C/G</b>	<b>Allele 1 гомозигота C/C</b>	<b>Allele 2 гомозигота G/G</b>	<b>Итого</b>
1 группа	<b>7</b> 77,8 29,2	<b>16</b> 53,3 66,7	<b>1</b> 50,0 4,2	<b>24</b> 58,5 100,0
2 группа	<b>1</b> 11,1 11,1	<b>7</b> 23,3 77,8	<b>1</b> 50,0 11,1	<b>9</b> 22,0 100,0
3 группа	<b>1</b> 11,1 12,5	<b>7</b> 23,3 87,5	<b>0</b> 0,0 0,0	<b>8</b> 19,5 100,0

Итого	<b>9</b> 100,0 22,0	<b>30</b> 100,0 73,2	<b>2</b> 100,0 4,9	<b>41</b> 100,0 100,0
-------	---------------------------	----------------------------	--------------------------	-----------------------------

**Таблица 19.** Оценка зависимости (сопряженности) признаков полиморфизма C1291G гена ADRA2A в исследуемых группах

	Эмпирическое значение	Критическое значение (p=0,05)	Уровень значимости p (альфа) n' (DF)		Ki
Хи-квадрат	2,9	9,5	0,575	4	0,315

**Таблица 20.** Таблица сопряженности полиморфизма Gly389Arg гена ADRB1 в исследуемых группах

	Норма гетерозигота C/G	Allele 1 гомозигота C/C	Allele 2 гомозигота G/G	Итого
1 группа	<b>15</b> 53,6 62,5	<b>4</b> 80,0 16,7	<b>5</b> 62,5 20,8	<b>24</b> 58,5 100,0
2 группа	<b>7</b> 25,0 77,8	<b>1</b> 20,0 11,1	<b>1</b> 12,5 11,1	<b>9</b> 22,0 100,0
3 группа	<b>6</b> 21,0 75,0	<b>0</b> 0,0 0,0	<b>2</b> 25,0 25,0	<b>8</b> 19,5 100,0
Итого	<b>28</b> 100,0 68,3	<b>5</b> 100,0 12,2	<b>8</b> 100,0 19,5	<b>41</b> 100,0 100,0

**Таблица 21.** Оценка зависимости (сопряженности) признаков полиморфизма Gly389Arg гена ADRB1 в исследуемых группах

	Эмпирическое значение	Критическое значение (p=0,05)	Уровень значимости p (альфа) n' (DF)		Ki
Хи-квадрат	2,5	9,5	0,649	4	0,292

**Таблица 22.** Таблица сопряженности полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 в исследуемых группах

	<b>Норма гетерозигота A/G</b>	<b>Allele 1 гомозигота A/A</b>	<b>Allele 2 гомозигота G/G</b>	<b>Итого</b>
1 группа	<b>11</b> 61,1 45,8	<b>11</b> 67,8 45,8	<b>2</b> 50,0 8,3	<b>24</b> 58,5 100,0
2 группа	<b>3</b> 16,7 33,3	<b>4</b> 21,1 44,4	<b>2</b> 50,0 22,2	<b>9</b> 22,0 100,0
3 группа	<b>4</b> 22,2 50,0	<b>4</b> 21,1 50,0	<b>0</b> 0 0	<b>8</b> 19,5 100,0
Итого	<b>18</b> 100,0 43,9	<b>19</b> 100,0 46,3	<b>4</b> 100,0 9,8	<b>41</b> 100,0 100,0

**Таблица 23.** Оценка зависимости (сопряженности) признаков полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 в исследуемых группах

	<b>Эмпирическое значение</b>	<b>Критическое значение (<math>p=0,05</math>)</b>	<b>Уровень значимости <math>p</math> (альфа) <math>n'</math> (DF)</b>		<b>Ki</b>
Chi- квадрат	1,4	9,5	0,836	4	0,226

**Таблица 24.** Таблица сопряженности полиморфизма C2578A гена VEGF в исследуемых группах

	<b>Норма гетерозигота C/A</b>	<b>Allele 1 гомозигота C/C</b>	<b>Allele 2 гомозигота A/A</b>	<b>Итого</b>
1 группа	<b>10</b> 50,0 41,7	<b>10</b> 71,4 41,7	<b>4</b> 57,1 16,7	<b>24</b> 58,5 100,0
2 группа	<b>6</b> 30,0 66,7	<b>1</b> 7,1 11,1	<b>2</b> 28,6 22,2	<b>9</b> 22,0 100,0
3 группа	<b>4</b> 20,0 50,0	<b>3</b> 21,4 37,5	<b>1</b> 14,3 12,5	<b>8</b> 19,5 100,0

Итого	<b>20</b> 100,0 48,8	<b>14</b> 100,0 34,1	<b>7</b> 100,0 17,1	<b>41</b> 100,0 100,0
-------	----------------------------	----------------------------	---------------------------	-----------------------------

**Таблица 25.** Оценка зависимости (сопряженности) признаков полиморфизма C2578A гена VEGF в исследуемых группах

	Эмпирическое значение	Критическое значение (p=0,05)	Уровень значимости p (альфа) n' (DF)		Ki
Хи-квадрат	2,9	9,5	0,574	4	0,315

**Таблица 26.** Таблица сопряженности полиморфизма C936T гена VEG в исследуемых группах

	Норма гетерозигота C/T	Allele 1 гомозигота C/C	Allele 2 гомозигота T/T	Итого
1 группа	<b>7</b> 50,0 29,2	<b>17</b> 63,0 70,8	<b>0</b> 0 0	<b>24</b> 58,5 100
2 группа	<b>5</b> 35,7 55,6	<b>4</b> 14,8 44,4	<b>0</b> 0 0	<b>9</b> 22,0 100
3 группа	<b>2</b> 14,3 25,0	<b>6</b> 22,2 75,0	<b>0</b> 0 0	<b>8</b> 19,5 100
Итого	<b>14</b> 100,0 34,1	<b>27</b> 100,0 65,9	<b>0</b> 0 0	<b>41</b> 100,0 100

**Таблица 27.** Оценка зависимости (сопряженности) признаков полиморфизма C936T гена VEGF в исследуемых группах

	Эмпирическое значение	Критическое значение (p=0,05)	Уровень значимости p (альфа) n' (DF)		Ki
Хи-квадрат	2,4	6,0	0,302	2	0,332

**Таблица 28.** Таблица сопряженности полиморфизма G634C гена VEGF в исследуемых группах

	<b>Норма гетерозигота G/C</b>	<b>Allele 1 гомозигота G/G</b>	<b>Allele 2 гомозигота C/C</b>	<b>Итого</b>
1 группа	<b>10</b> 50,0 41,7	<b>13</b> 65,0 54,2	<b>1</b> 100,0 4,2	<b>24</b> 58,5 100,0
2 группа	<b>6</b> 30,0 66,7	<b>3</b> 15,0 33,3	<b>0</b> 0,0 0,0	<b>9</b> 22,0 100,0
3 группа	<b>4</b> 20,0 50,0	<b>4</b> 20,0 50,0	<b>0</b> 0,0 0,0	<b>8</b> 19,5 100,0
Итого	<b>20</b> 100,0 48,8	<b>20</b> 100,0 48,8	<b>1</b> 100,0 2,4	<b>41</b> 100,0 100,0

**Таблица 29.** Оценка зависимости (сопряженности) признаков полиморфизма G634C гена VEGF в исследуемых группах

	<b>Эмпирическое значение</b>	<b>Критическое значение (<math>p=0,05</math>)</b>	<b>Уровень значимости <math>p</math> (альфа)    <math>n'</math> (DF)</b>		<b>Ki</b>
Chi- квадрат	2,1	9,5	0,711	4	0,273

Таким образом, достоверных отличий между исследуемыми группами детей по частоте встречаемости полиморфных вариантов генов адренорецепторов и VEGF не обнаружено.

Проведенный сравнительный анализ частоты встречаемости изучаемых полиморфизмов у детей по группам с использованием критерия Краскела-Уоллиса и попарного сравнения групп с использованием U-критерия Манна-Уитни статистически достоверных отличий не выявил. Также нам не удалось обнаружить влияние полиморфизмов адренорецепторов на потребность в инотропной и вазопрессорной потребности. Однако в ходе исследования

обнаружены корреляционные связи клинико-лабораторных показателей и наличия соответствующих полиморфизмов.

Выявлена прямая корреляционная взаимосвязь наличия полиморфизма Gly16Gly  $\beta$ 2-адренорецепторов с количеством миелоцитов в ОАК ( $R=0,324$ ;  $p=0,0391$ ), белка в ОАМ ( $R=0,492$ ;  $p=0,0020$ ) в 1-е сутки жизни, а также с темпом диуреза ( $R=0,386$ ;  $p=0,0466$ ) в 28-е сутки жизни. Также обнаружена обратная связь наличия полиморфизма  $\beta$ 2-адренорецепторов с количеством щелочной фосфатазы крови ( $R=-0,338$ ;  $p=0,0379$ ) в 1-е сутки жизни и количеством эозинофилов в ОАК ( $R=-0,463$ ;  $p=0,0066$ ), альбумина ( $R=-0,517$ ;  $p=0,0403$ ), ВАКТ без тепловой пробы в миогенном диапазоне регуляции микроциркуляции ( $R=-0,344$ ;  $p=0,0466$ ) на 28-е сутки жизни.

В нашем исследовании обнаружена обратная корреляционная связь наличия полиморфизма Arg389Arg  $\beta$ 1-адренорецепторов и темпом диуреза на 7 сутки жизни ( $R=-0,336$ ;  $p=0,0487$ ).

В нашем исследовании обнаружена обратная связь наличия полиморфизма C(FAM)>G(R6G) ADRA2A с количеством натрия ( $R=-0,431$ ;  $p=0,0077$ ), ВАКТ во время тепловой пробы в миогенном диапазоне регуляции микроциркуляции ( $R=-0,357$ ;  $p=0,0219$ ) и ВАКТ без тепловой пробы в нейрогенном диапазоне регуляции микроциркуляции ( $R=-0,324$ ;  $p=0,0390$ ) на 1-е сутки жизни, количеством общего белка в крови на 7-е сутки жизни ( $R=-0,365$ ;  $p=0,0262$ ) и 28-е сутки жизни ( $R=-0,385$ ;  $p=0,0268$ ).

Нами выявлена прямая связь наличия полиморфизма G>C-634 гена VEGF с ВАКТ без тепловой пробы в эндотелиальном диапазоне регуляции микроциркуляции ( $R=0,479$ ;  $p=0,0042$ ) на 28-е сутки. Также обнаружена прямая связь полиморфизма C>A 2578 гена VEGF с ВАКТ без тепловой пробы в эндотелиальном диапазоне регуляции микроциркуляции ( $R=0,329$ ;  $p=0,0357$ ) на 3-е сутки жизни. Выявлена обратная корреляционная связь наличия полиморфизма C>A 2578 гена VEGF с ИЛ-6 в первые сутки жизни ( $R=-0,321$ ;  $p=0,0406$ ).

Корреляционных связей наличия полиморфизма 936 C>T гена VEGF и клинико-лабораторных показателей детей обнаружено не было.

Таким образом, обнаружено, что полиморфизм C1291G гена ADRA2A у детей взаимосвязан с амплитудами колебания кожной температуры в миогенном и нейрогенном диапазоне регуляции тонуса микрососудов в первые сутки жизни, что может быть обусловлено анатомическими особенностями расположения альфа2-адренорецепторов. Выявленная корреляция полиморфизма Arg389Arg гена ADRB1 и темпом диуреза в конце раннего неонатального периода (7 сутки жизни) возможно объясняется функциональными особенностями влияния  $\beta_1$ -адренорецепторов на выброс ренина юкстагломерулярным аппаратом почек [54]. Обнаруженная взаимосвязь полиморфизма Gly16Gly гена ADRB2 с темпом диуреза и амплитудой колебания кожной температуры в миогенном диапазоне регуляции микроциркуляции на 28 сутки жизни может быть обусловлена изменением активности  $\beta_1$ -адренорецепторов гладкой мускулатуры.

## **Глава 5. Статистическое моделирование клинико-лабораторных факторов в развитии тяжелого состояния у недоношенных детей в неонатальном периоде**

Анализ зависимостей на изучаемой выборке позволил отобрать показатели 1-х и 3-х суток жизни, имеющие статистически достоверные и сильные взаимосвязи с тяжестью состояния по шкале NEOMOD на 7-е сутки жизни, а также с риском летального исхода в неонатальном периоде (до 28 суток жизни) и в раннем возрасте. Из отобранных показателей были сформированы две модели, основанные на множественной регрессии.

### **5.1. Прогностическая модель тяжести состояния, используемая в первые сутки жизни**

Отобраны 3 фактора, сильнее всего связанные с тяжестью состояния на 7 сутки жизни, в т.ч. с последующей летальностью:

- Темп диуреза в 1-е сутки жизни ( $R = 0,382$ ;  $p = 0,014$ );
- Уровень лактата в крови в 1-е сутки жизни ( $R = 0,510$ ;  $p = 0,001$ );
- Уровень гемоглобина в ОАК в 1-е сутки жизни ( $R = -0,412$ ;  $p = 0,007$ ).

1. Уравнение множественной регрессии:

$$Y = 0,0658 + 0,1562 \cdot X_1 + 0,1632 \cdot X_2 - 0,0046 \cdot X_3$$

$X_1$  - темп диуреза (1 сутки, мл/кг/час),

$X_2$  - лактат (1 сутки, мкмоль/л),

$X_3$  - ОАК: гемоглобин (1 сутки, г/л).

Рассчитанное значение  $Y$  необходимо округлить до целого.

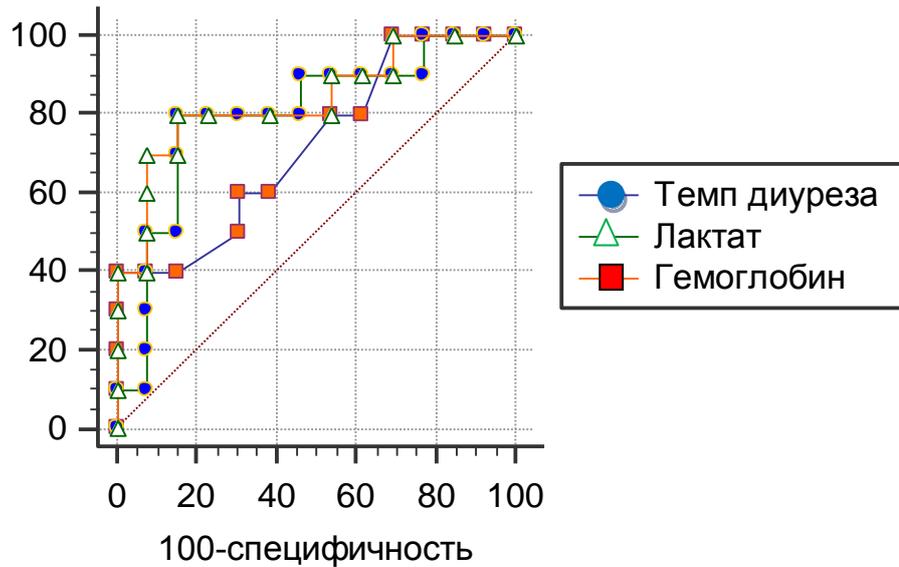
$Y$  - прогнозируемое значение тяжелого течения, в т.ч. летальности.

Если округленное значение  $Y$  равно 0, то данный результат указывает на низкую вероятность тяжелого состояния на 7 сутки жизни. Если  $Y$  равна 1, то это свидетельствует о высокой вероятности тяжелого состояния на 7 сутки жизни, в том числе о высоком риске летального исхода.

Модель достаточно эффективна (коэффициент множественной корреляции  $R = 0,758$ ; доля влияния суммы входящих в модель факторов составляет  $R^2 \cdot 100 = 57,5$  %), статистически значима (критерий  $F = 8,572$ ;  $p = 0,0008$ ), обладает

хорошими показателями адекватности: чувствительность – 90,0%; специфичность – 92,3%; показатель воспроизводимости – 81,8%; показатель соответствия – 91,3%.

Расчетные данные ROC анализа и сравнения кривых ROC представлены в приложении 4. График ROC кривых темпа диуреза, лактата и гемоглобина представлен на рисунке 20.

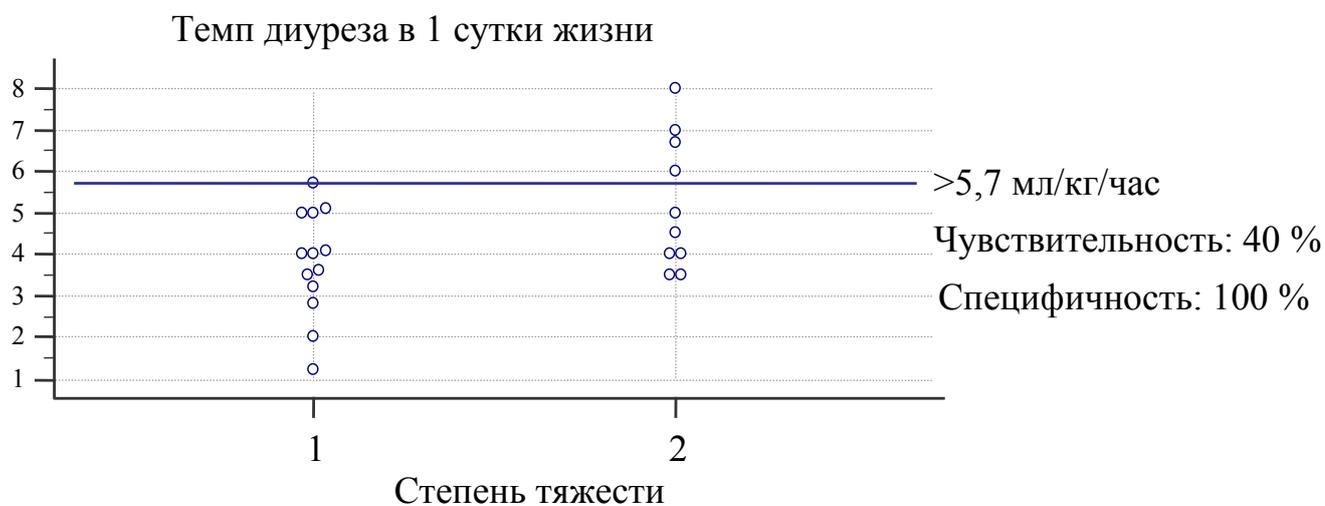


**Рис. 20.** График ROC кривых темпа диуреза, лактата и гемоглобина

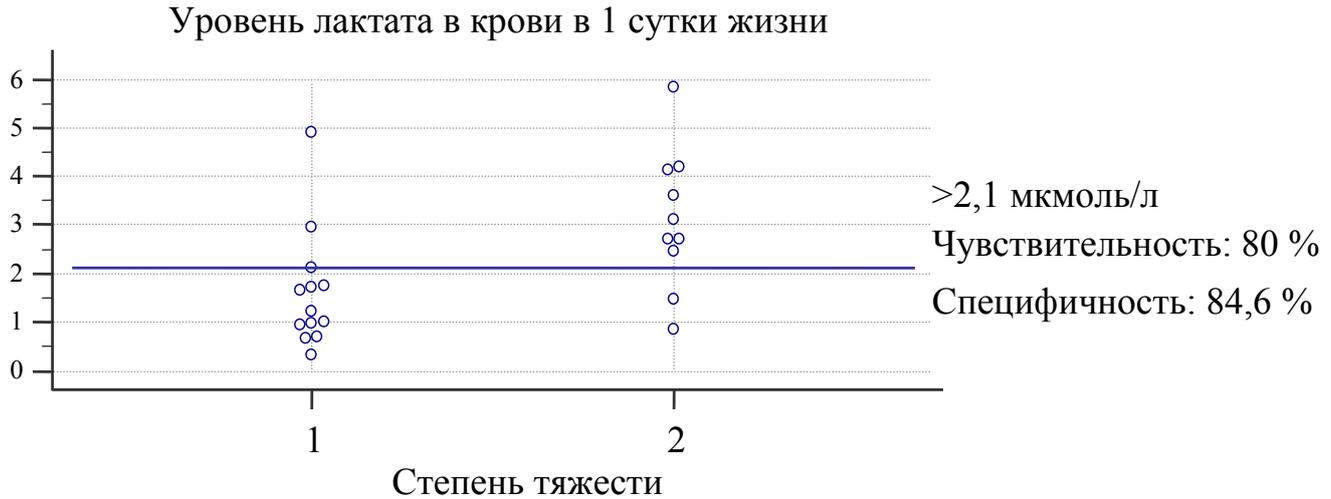
По результатам ROC анализа определены точки разделения для уровня гемоглобина (Рисунок 21), темпа диуреза (Рисунок 22), и лактата (рисунок 23) с целью выявления группы детей с высоким риском сохранения тяжелого состояния к 7 суткам жизни.



**Рис. 21.** Точка разделения по уровню гемоглобина ( $\leq 143$  г/л) в крови у новорожденных детей в первые сутки. В 1 группу вошли дети с оценкой по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни до 3 баллов, а во 2 группу – 3 и более баллов



**Рис. 22.** Точка разделения по темпу диуреза ( $> 5,7$  мл/кг/час) в крови у новорожденных детей в первые сутки. В 1 группу вошли дети с оценкой по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни до 3 баллов, а во 2 группу – 3 и более баллов



**Рис. 23.** Точка разделения по уровню лактата (>2,1 мкмоль/л) в крови у новорожденных детей в первые сутки. В 1 группу вошли дети с оценкой по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни до 3 баллов, а во 2 группу – 3 и более баллов

### 5.2. Прогностическая модель тяжести состояния, используемая в третьи сутки жизни

Отобраны 3 фактора, сильнее всего связанные с тяжестью состояния на 7-е сутки жизни, в т.ч. с последующей летальностью:

- Уровень лактата в крови в 3-е сутки жизни ( $R = 0,569$ ;  $p < 0,001$ );
- Количество эритроцитов в ОАК в 3-е сутки жизни ( $R = -0,644$ ;  $p < 0,001$ );
- Уровень гематокрита в ОАК в 3-е сутки жизни ( $R = -0,635$ ;  $p < 0,001$ ).

1. Уравнение множественной регрессии:

$$Y = 1,4878 + 0,1271 \cdot X_1 - 0,1542 \cdot X_2 - 0,0123 \cdot X_3$$

$X_1$  - лактат (3 сутки, мкмоль/л),

$X_2$  - ОАК: эритроциты (3 сутки,  $10^{12}/л$ ),

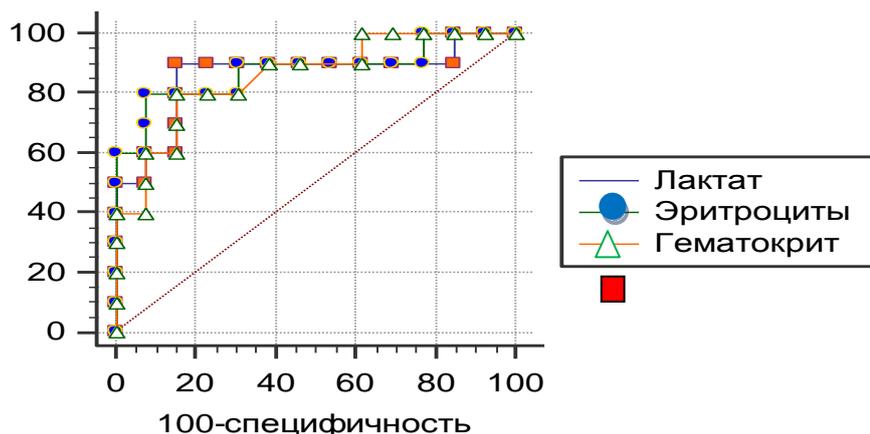
$X_3$  - гематокрит (3 сутки, %).

$Y$  (округленное до целого) – прогнозируемое значение тяжелого состояния на 7 сутки жизни, в т.ч. летальности (0 – нет, 1 – есть).

Модель является достаточно эффективной (коэффициент множественной корреляции  $R = 0,676$ ; доля влияния суммы входящих в модель факторов составляет  $R^2 \cdot 100 = 45,6 \%$ ), статистически значимой (критерий  $F = 5,318$ ;  $p =$

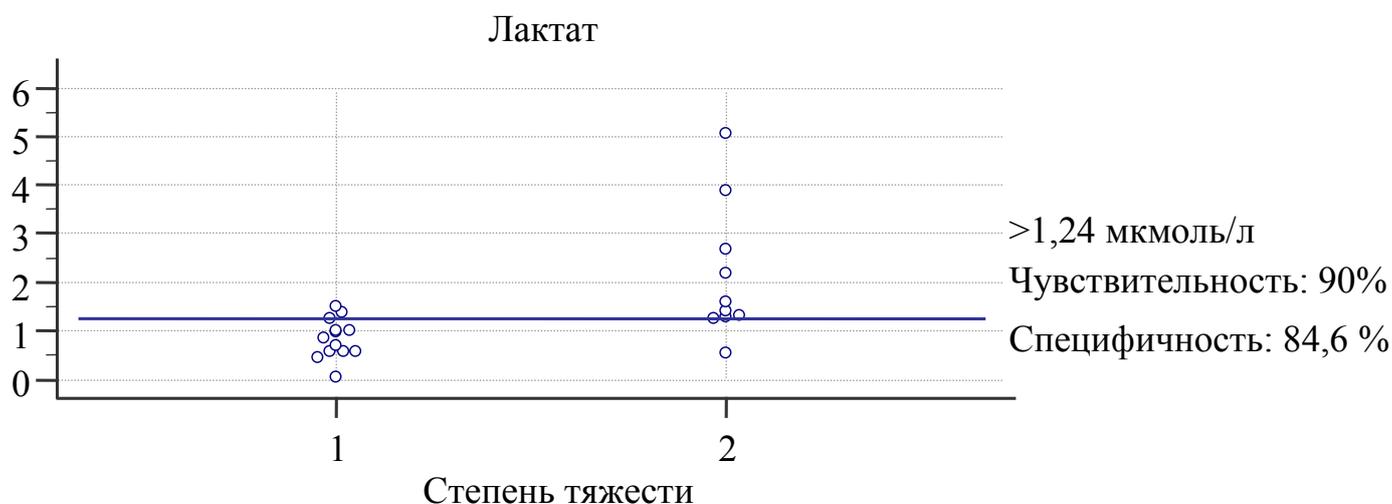
0,008), обладает хорошими показателями адекватности: чувствительность – 90,0%; специфичность – 100,0%; показатель воспроизводимости – 90,0%; показатель соответствия – 95,7%.

Расчетные данные ROC анализа и сравнения кривых ROC представлены в Приложении 5. График ROC кривых уровня лактата, эритроцитов и гематокрита представлен на рисунке 24.



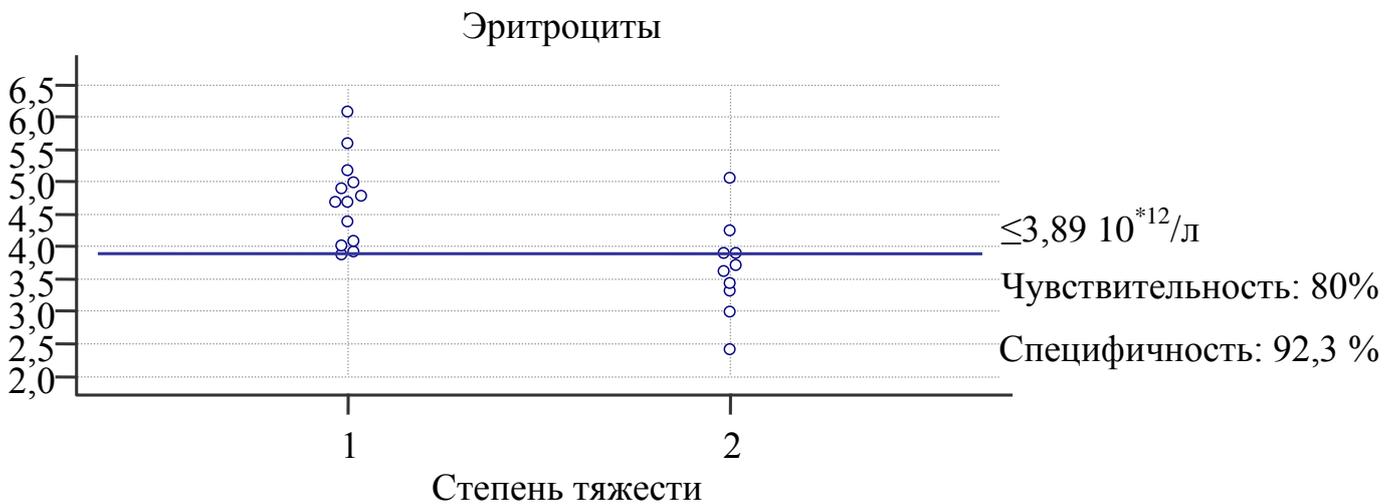
**Рис. 24.** График ROC кривых уровня лактата, эритроцитов и гематокрита

По результатам ROC анализа определены точки разделения для уровня лактата (Рисунок 25), эритроцитов (Рисунок 26) и гематокрита (Рисунок 27) исследуемых в 3 сутки жизни с целью выявления группы детей с высоким риском сохранения тяжелого состояния к 7 суткам жизни.

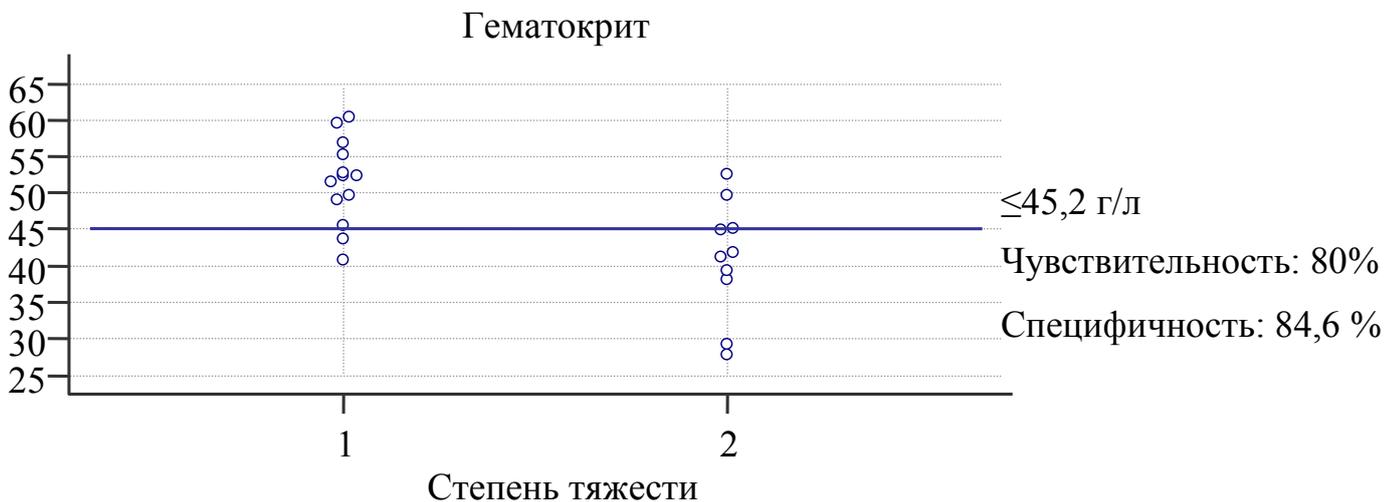


**Рис. 25.** Точка разделения по уровню лактата (>1,24 мкмоль/л) в крови у новорожденных детей в третьи сутки жизни. В 1 группу вошли дети с оценкой по

шкале NEOMOD на 7 сутки жизни менее 3 баллов, а во 2 группу – 3 и более баллов



**Рис. 26.** Точка разделения по количеству эритроцитов ( $\leq 3,89 \cdot 10^{12}/\text{л}$ ) в крови у новорожденных детей в третьи сутки жизни. В 1 группу вошли дети с оценкой по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни менее 3 баллов, а во 2 группу – 3 и более баллов



**Рис. 27.** Точка разделения по уровню гематокрита ( $\leq 45,2 \text{ г/л}$ ) в крови у новорожденных детей в третьи сутки жизни. В 1 группу вошли дети с оценкой по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни менее 3 баллов, а во 2 группу – 3 и более баллов

### 5.3. Прогнозирование тяжелого состояния у недоношенных детей в неонатальном периоде и летального исхода

1. Стратификация групп риска тяжелого состояния и летального исхода у глубоко недоношенных новорожденных пациентов:

А) Определение риска тяжелого состояния и летального исхода с использованием Модели риска 1 и 3 суток.

1). Уравнение множественной регрессии для 1 суток:

$$Y = 0,0658 + 0,1562 \cdot X_1 + 0,1632 \cdot X_2 - 0,0046 \cdot X_3$$

$X_1$  - темп диуреза (1 сутки, мл/кг/час),

$X_2$  - лактат (1 сутки, мкмоль/л),

$X_3$  - ОАК: гемоглобин (1 сутки, г/л).

2). Уравнение множественной регрессии для 3 суток:

$$Y = 1,4878 + 0,1271 \cdot X_1 - 0,1542 \cdot X_2 - 0,0123 \cdot X_3$$

$X_1$  - лактат (3 сутки, мкмоль/л),

$X_2$  - ОАК: эритроциты (3 сутки,  $10^{12}/л$ ),

$X_3$  - гематокрит (3 сутки, %).

Рассчитанное значение  $Y$  необходимо округлить до целого.

$Y$  - прогнозируемое значение тяжелого состояния на 7 сутки жизни, в т.ч. летальности в раннем периоде.

Если округленное значение  $Y$  равно 0, то данный результат указывает на низкую вероятность тяжелого состояния, а если  $Y$  равна 1, то это свидетельствует о высокой вероятности как тяжелого состояния, так и летального исхода.

Б) Определение риска летального исхода по концентрации ИЛ-8 в крови в 1 сутки жизни.

Оценка риска летального исхода по уровню ИЛ-8 основана на точке разделения равной 124,3 пг/мл.

1) Если у ребенка концентрация ИЛ-8 в крови меньше или равно 124,3 пг/мл, то такой ребенок относится к группе низкого риска летального исхода.

2) Если уровень ИЛ-8 больше 124,3 пг/мл в первые сутки жизни, то это указывает на высокий риск неблагоприятного исхода в неонатальном периоде.

2. Алгоритм прогнозирования в первые 3 суток у глубоко недоношенных детей летального исхода до 3 месяцев жизни.

**Группа низкого риска летального исхода.**

- А) Значение  $Y$  при использовании Модели риска 1 суток жизни равно 0.
- Б) Подтверждение низкого риска сохранения тяжелого состояния к 7 суткам жизни производится на 3 сутки жизни. Значение  $Y$  при использовании Модели риска 3 суток жизни также равно 0.
- В) Концентрация ИЛ-8 в 1 сутки жизни в крови меньше или равно 124,3 пг/мл.

**Группа среднего риска летального исхода.**

- А) Концентрация ИЛ-8 в 1 сутки жизни в крови меньше или равно 124,3 пг/мл.
- Б) Значение  $Y$  при использовании Модели риска равно 1.

Либо:

- А) Концентрация ИЛ-8 в 1 сутки жизни в крови больше 124,3 пг/мл.
- Б) Значение  $Y$  при использовании Модели риска равно 0.

**Группы высокого риска летального исхода.**

- А) Концентрация ИЛ-8 в 1 сутки жизни в крови больше 124,3 пг/мл.
- Б) Значение  $Y$  при использовании Модели риска равно 1.

#### **5.4. Клинические примеры**

**Пример № 1:** Пациент Ц (№17). Возраст матери 29 лет.

Ребенок от 3 беременности, протекавшей на фоне: гестационный сахарный диабет, гестационный пиелонефрит, ВИЧ (антиретровирусные препараты принимала регулярно). Курс дексазона проведен в полном объеме.

Роды 1, преждевременные в сроке в 25 недель. Дородовое излитие околоплодных вод (безводный период 3 суток). Передние околоплодные воды светлые, а задние – мекониальные, умеренной интенсивности, с резким запахом. Послед – оболочки зеленые, с запахом. Пол: мужской. Оценка по шкале Апгар – 3/6/7 баллов. Масса тела – 880 г, длина тела – 33 см, окружность головы – 25 см, окружность груди – 23 см.

**Состояние при рождении тяжелое.** Мышечная атония, гипорефлексия. Кожные покровы цианотичные. Частота сердечных сокращений (ЧСС) – 70 ударов

в минуту. Не кричит. Самостоятельное дыхание не регулярное, кожные покровы цианотичные. Насыщение (сатурация) крови кислородом ( $SpO_2$ ) к концу 30 сек. – 45%, ЧСС – 72 в мин. Оценка по шкале Сильвермана – 6 баллов. Учитывая гестационный возраст (25 недель), брадикардию и гипоксемию, проведена интубация трубкой portex 2,5, начата ИВЛ ( $FiO_2$  30%). К концу 1 мин.  $SpO_2$  – 62%, ЧСС – 94 в минуту. Кожные покровы цианотичные. К концу 2 минуты  $SpO_2$  – 66%, ЧСС – 115 в минуту. ЧСС на 3 мин. – 110 в минуту. К концу 5-й минуты  $SpO_2$  – 77%, ЧСС – 120 в минуту, кожные покровы порозовели, акроцианоз. На 10-й минуте  $SpO_2$  – 92%,  $FiO_2$  100%. Кожные покровы розовые. На 12 минуте  $SpO_2$  95%,  $FiO_2$  постепенно снижено до 30%. На 14 минуте введен Куросурф 200 мг/кг через эндотрахеальную трубку.  $SpO_2$  – 94%,  $FiO_2$  40%. Оценка по ш.Болларда – 4 балла. Через 20 минут после рождения ребенок переведен в ОРИТ бригадой реанимации.

В 1 сутки состояние тяжелое. Находился на ИВЛ (режим pressure Assist Control), сатурация – 94 %, оценка по шкале Сильвермана 6 баллов.  $FiO_2$  – 30%. По КЩС декомпенсированный смешанный ацидоз ( $pH = 7,15$ ).  $SaO_2$  92 – 95%. Кожные покровы эритематозные, периоральный цианоз, акроцианоз, чистые. Выражены признаки незрелости и недоношенности. Оценка по шкале Болларда – 5 баллов, соответствует сроку гестации. Неврологический статус: в сознании, мышечная гипотония, гипорефлексия. Зрачки средней величины, реакция на свет есть. Большой родничок не выбухает 1 x 1 см, не напряжен. В легких дыхание проводится во все отделы, ослаблено, выслушиваются проводные и крепитирующие хрипы. Тоны сердца приглушены, ритмичные, легкий систолический шум. ЧСС в пределах 155 ударов в минуту. Пульс на периферических артериях лабильный. АД 41/16 мм.рт.ст. (среднее АД 24 мм.рт.ст.) Гемодинамика на фоне титрования добутамина 10 мкг/кг/мин и дофамина 5 мкг/кг/мин стабильная. Живот не вздут, мягкий. В ОАК лейкоцитов  $20,2 \cdot 10^9$ /л, миелоцитов 2%, юных 1%, палочкоядерных нейтрофилов 18%, сегментоядерных нейтрофилов 41%, лимфоцитов 30%, моноцитов 8%, тромбоцитов  $146 \cdot 10^9$ /л. СРП 23,4 мг/л, лактат 4,12 мкмоль/л.

На 3-е сутки состояние тяжелое. Находится на ИВЛ (режим pressure Assist Control). По КЩС сохраняется метаболический ацидоз (рН 7,26). SaO<sub>2</sub> в пределах 92%. Кожные покровы розовые, чистые. Тоны сердца приглушены, ритмичные, легкий систолический шум. ЧСС 130–142 ударов в минуту. АД 54/23 мм.рт.ст. (среднее АД 33 мм.рт.ст.). Гемодинамика поддерживается титрованием добутамина 10 мкг/кг/мин, на этом фоне стабильная. Пульс на периферических артериях удовлетворительного наполнения. В ОАК лейкоцитоз с нарастанием 25,7 10<sup>9</sup>/л, эозинофилов 5%, миелоцитов 3%, палочкоядерных нейтрофилов 2%, сегментоядерных нейтрофилов 54%, лимфоцитов 30%, моноцитов 6%, тромбоцитов 166 10<sup>9</sup>/л. СРП 15 мг/л, лактат 2,17.

**Диагностический алгоритм определения риска развития тяжелого состояния и летального исхода:**

В первые сутки жизни:

1. Уравнение множественной регрессии для 1 суток:

$$Y = 0,0658 + 0,1562 \cdot X_1 + 0,1632 \cdot X_2 - 0,0046 \cdot X_3 = 0,0658 + 0,1562 \cdot 4 + 0,1632 \cdot 4,12 - 0,0046 \cdot 143 = \mathbf{0,705}$$

$X_1$  - темп диуреза (1 сутки, мл/кг/час) - 4 мл/кг/час.

$X_2$  - лактат (1 сутки) - 4,12 мкмоль/л.

$X_3$  - ОАК: гемоглобин (1 сутки) - 143 г/л.

Округленное  $Y = 1$ .

2. Уравнение множественной регрессии для 3 суток:

$$Y = 1,4878 + 0,1271 \cdot X_1 - 0,1542 \cdot X_2 - 0,0123 \cdot X_3 = 1,4878 + 0,1271 \cdot 2,17 - 0,1542 \cdot 4,23 - 0,0123 \cdot 49,7 = \mathbf{0,50003}$$

$X_1$  - лактат (3 сутки) - 2,17 мкмоль/л.

$X_2$  - ОАК: эритроциты (3 сутки) - 4,23 10<sup>12</sup>/л.

$X_3$  - гематокрит (3 сутки) - 49,7 %.

Округленное  $Y = 1$ .

Результат расчетов  $Y$  в 1 и 3 сутки равен 1, то это свидетельствует о высоком риске развития тяжелого состояния на 7 сутки жизни.

**3. Определение риска летального исхода по концентрации ИЛ-8 в крови в 1 сутки жизни.**

ИЛ-8 в 1 сутки жизни равен **191,6** пг/мл. Уровень ИЛ-8 больше 124,3 пг/мл, что свидетельствует о высоком риске летального исхода.

В связи с превышением концентрации ИЛ-8 в крови ребенка больше 124,3 пг/мл и результатом расчета Модели риска, значение  $Y$  равно 1, как в 1, так и 3 сутки жизни ребенок отнесен к группе высокого риска развития летального исхода.

**Клиническая картина на 7 сутки жизни.** Оценка по шкале NEOMOD равна 2 баллам. Состояние ребенка тяжелое, стабильное. В связи с отрицательной динамикой, в виде нарастания дыхательной недостаточности с 6 суток жизни находится на ВЧОИВЛ  $FiO_2$  40%. По КЩС декомпенсированный респираторный ацидоз ( $pH = 7,25$ ).  $SaO_2$  93–95%. Кожные покровы розовые. Проводится лечение гнойного конъюнктивита (*Escherichia coli*). Неврологический статус: в сознании, отмечается гипотония, гипорефлексия. Вибрация грудной клетки достаточная равномерная с обеих сторон, средостение срединно. Тоны сердца приглушены, ритмичные, шумы на фоне ВЧОИВЛ не выслушиваются. ЧСС в пределах 131–152 ударов в минуту. Пульс на периферических артериях удовлетворительного наполнения. АД 56/24 мм.рт.ст. (среднее АД 35 мм.рт.ст.) без инотропной и вазопрессорной терапии. В ОАК сохраняется лейкоцитоз  $25,8 \cdot 10^9/л$ , сегментоядерных нейтрофилов 80%, лимфоцитов 10%, моноцитов 10%, тромбоцитов  $180 \cdot 10^9/л$ . СРП  $<2$  мг/л, лактат 1,02.

На фоне проводимой терапии, на 9 сутки по нейросонографии ВЖК 1 степени, проведена гемостатическая терапия. На 21 сутки состояние крайне тяжелое, с резкой отрицательной динамикой. Находился на ВЧОИВЛ,  $FiO_2$  100%. Гемодинамика не стабильная, поддерживается титрованием добутамина 15 мкг/кг/мин, допамина 10 мкг/кг/мин, введением Солу-Кортефа 2 мг/кг каждые 4 часа. Появилась клиника желудочно-кишечной непроходимости, асцит. На фоне проводимой терапии произошла остановка сердечной деятельности,

реанимационные мероприятия без эффекта. На 21 сутки констатирована биологическая смерть.

**Пример № 2:** Пациент А (№9). Возраст матери 43 года.

Ребенок от 5 беременности, протекавшей на фоне: синдром гиперкоагуляции, кандидоза. Тазовое предлежание. По УЗИ 24–25 недель – маловодие. Подозрение на частичную отслойку плаценты. Бактериологический посев из цервикального канала – *Enterococcus faecalis* 10\*6. Курс дексазона проведен полностью.

Роды 2, преждевременные оперативные в сроке 26–27 недель в ножном предлежании. Рубец на матке после кесарева сечения. Низкая плацентация. Дородовое излитие околоплодных вод (безводный период 4 суток). Частичная отслойка нормально расположенной плаценты. Предлежание петель пуповины. Цервицит. Экстренное кесарево сечение. Воды геморрагические. Послед с двумя участками краевой отслойки 5 см и 2 см. Пол мужской. Оценка по шкале Апгар – 5/6/7 балла. Масса тела – 997 г, длина тела – 35 см, окружность головы – 26 см, окружность груди – 22 см.

**Состояние в родильном отделении.** Закричал сразу. Самостоятельное дыхание регулярное с участием вспомогательной мускулатуры (западение грудины, втяжение межреберий). Кожные покровы цианотичные, экхимозы на руках, ногах, передней брюшной стенке. ЧСС – 132 в минуту. SpO<sub>2</sub> к концу 1 мин – 65%. ЧСС – 108 уд/мин. Мышечная гипотония, гипорефлексия. Начат СРАР через назофаренгиальную трубку. SpO<sub>2</sub> на 3 минуте – 73%. SpO<sub>2</sub> на 5 минуте – 78%, FiO<sub>2</sub> постепенно увеличено до 60%. Кожа с акроцианозом. SpO<sub>2</sub> на 10 минуте – 90%. Кожа розовая. Неинвазивным способом введен Куросурф (в дозе 200 мг/кг). На 13 минуте SpO<sub>2</sub> – 95%, FiO<sub>2</sub> пошагово снижена до 50%. Кожные покровы розовые. Самостоятельное дыхание регулярное с участием вспомогательной мускулатуры. Мышечная гипотония, рефлексы вызываются. Грудная клетка не вздута. В легких дыхание проводится во все отделы, ослаблено в нижних отделах, хрипы. ЧДД – 58 в минуту. Тоны сердца умеренно

приглушены, ритм правильный. ЧСС – 135 в минуту. Через 20 минут после рождения ребенок переведен в ОРИТ в транспортном кувете, на СРАР, сатурация – 94%,  $FiO_2$  – 50%.

Поступил в ОРИТ в транспортном кувете на мононазальном СРАР, оценка по шкале Сильвермана – 5 баллов, в отделении переведен на НСРАР. По КЩС компенсированный метаболический ацидоз (рН 7,34).  $SaO_2$  в пределах 90–94%. Кожные покровы эритематозные, периоральный цианоз, акроцианоз, экхимозы на теле и конечностях. Тургор мягких тканей сохранен, ткани пастозные. Видимые слизистые чистые, розовые. Выражены признаки незрелости и недоношенности. Оценка по шкале Балларда соответствует сроку гестации. Неврологический статус: в сознании, мышечная гипотония, гипорефлексия. Зрачки OS=OD, средней величины, реакция на свет есть. Большой родничок не выбухает 1,5 x 1,5 см, не напряжен. В легких дыхание жесткое, ослабленное в задненижних отделах, проводится во все отделы, проводные и крепитирующие хрипы. Тоны сердца приглушены, ритмичные, легкий систолический шум. Перкуторно границы сердечной тупости в пределах возрастной нормы. ЧСС в пределах нормы 145 в минуту. Пульс на периферических артериях удовлетворительного наполнения. Гемодинамика стабильная без инотропной и вазопрессорной терапии. ЧСС 128–145 удара в минуту. АД 51/22 мм.рт.ст. (среднее АД 32 мм.рт.ст.).

**Диагностический алгоритм определения риска развития тяжелого состояния и летального исхода:**

В первые сутки жизни:

1. Уравнение множественной регрессии для 1 суток:

$$Y = 0,0658 + 0,1562 \cdot X_1 + 0,1632 \cdot X_2 - 0,0046 \cdot X_3 = 0,0658 + 0,1562 \cdot 5 + 0,1632 \cdot 1,7 - 0,0046 \cdot 152 = \mathbf{0,43}$$

$X_1$  - темп диуреза (1 сутки, мл/кг/час) - 5 мл/кг/час.

$X_2$  - лактат (1 сутки) - 1,7 мкмоль/л.

$X_3$  - ОАК: гемоглобин (1 сутки) - 152 г/л.

Округленное  $Y = 0$ .

2. Уравнение множественной регрессии для 3 суток:

$$Y = 1,4878 + 0,1271 \cdot X_1 - 0,1542 \cdot X_2 - 0,0123 \cdot X_3 = 1,4878 + 0,1271 \cdot 1,01 - 0,1542 \cdot 4,67 - 0,0123 \cdot 51,5 = \mathbf{0,26}$$

$X_1$  - лактат (3 сутки) - 1,01 мкмоль/л.

$X_2$  - ОАК: эритроциты (3 сутки) -  $4,67 \cdot 10^{12}$ /л.

$X_3$  - гематокрит (3 сутки) - 51,5 %.

Округленное  $Y = 0$ .

Результат расчетов  $Y$  в 1 и 3 сутки равен 0, то это свидетельствует о низком риске развития тяжелого состояния на 7 сутки жизни.

**3. Определение риска летального исхода по концентрации ИЛ-8 в крови в 1 сутки жизни.**

ИЛ-8 в 1 сутки жизни равен **294** пг/мл.

Уровень ИЛ-8 больше 124,3 пг/мл, что свидетельствует о высоком риске летального исхода.

В связи с превышением концентрации ИЛ-8 в крови ребенка больше 124,3 пг/мл и результатом расчета Модели риска, значение  $Y$  равно 0, как в 1, так и 3 сутки жизни ребенок отнесен к группе среднего риска развития летального исхода.

### **Динамика состояния**

Количество баллов по шкале NEOMOD на 1 сутки жизни равнялось 1, на 3 сутки – 3 балла, на 7 – 2 балла. Весь ранний неонатальный период ребенок находился на НСРАР. В течение 40 суток проводилась неинвазивная вспомогательная респираторная поддержка. На 59 сутки ребенок переведен из ОРИТ в отделение патологии новорожденных (ОПН).

**Пример № 3:** Пациент Я. (№11). Возраст матери 31 год.

Ребенок от 1 беременности, протекавшей на фоне: хронической урогенитальной инфекции, анемии, гестационного сахарного диабета. На 12–13 неделе – бактериурия. Стационарное лечение 29 недель – ОРВИ, острый ринофарингит. На 32–33 недели бактериологический посев с цервикального

канала – роста нет. Посев мочи – *Staphylococcus saprophyticus* 10\*4. Курс Дексазона проведен полностью.

Роды 1, преждевременные, в сроке 33 недели, оперативные. Дистресс плода. Тяжелая преэклампсия. Воды желтоватые. Послед – мелкие инфаркты. Пол: женский. Оценка по шкале Апгар – 7/7/8 балла. Масса тела – 1470 г, длина тела – 40 см, окружность головы – 29 см, окружность груди – 26 см.

**Состояние в родильном отделении** тяжелое. Мышечная гипотония, гипорефлексия. Кожные покровы цианотичные. ЧСС 120 ударов в минуту. Крик слабый. Самостоятельное дыхание регулярное с участием вспомогательной мускулатуры. Начат СРАР через назофарингеальную трубку. Через 30 секунд дыхание регулярное с участием дыхательной мускулатуры, ЧСС 138 в минуту. К концу 1 минуты ЧСС 134 в минуту, SpO<sub>2</sub> – 58%, самостоятельное дыхание регулярное с участием вспомогательной мускулатуры, кожные покровы розовые, акроцианоз. Мышечная гипотония, рефлексы вызываются. Продолжен СРАР. SpO<sub>2</sub> на 3 мин – 68%. FiO<sub>2</sub> увеличено до 30%. Кожные покровы розовые, акроцианоз. SpO<sub>2</sub> на 5 минуте – 84%, FiO<sub>2</sub> 30%. Мышечная гипотония, рефлексы вызываются. Кожные покровы розовые, акроцианоз. SpO<sub>2</sub> к 10 минуте – 92%. Кожные покровы розовые. SpO<sub>2</sub> к 12 минуте – 94%, FiO<sub>2</sub> 30%. В легкие дыхание значительно ослаблено, на вдохе крепитирующие хрипы с обеих сторон. Тоны сердца приглушенные, ритм правильный. ЧСС – 138 в минуту.

Поступил в ОРИТ в транспортном кувете на мононазальном СРАР, оценка по шкале Сильвермана – 5–6 баллов, переведен на DUOPAP. По КЩС компенсированный метаболический ацидоз (pH = 7,39). SaO<sub>2</sub> 92–94 %. Кожные покровы эритематозные, периоральный цианоз, акроцианоз, чистые. Тургор мягких тканей сохранен, ткани пастозные. Видимые слизистые чистые, розовые. Оценка по шкале Балларда соответствует гестационному возрасту. Неврологический статус: в сознании, мышечная гипотония, гипорефлексия. Зрачки OS=OD, средней величины, реакция на свет есть. Большой родничок не выбухает 1,5 x 1,5 см, не напряжен. В легких дыхание жесткое, ослабленное в задненижних отделах, проводится во все отделы, влажные, проводные и

крепитирующие хрипы. Из трахеи аспирируется небольшое количество белесоватой слизистой мокроты. Тоны сердца приглушены, ритмичные, легкий систолический шум. Перкуторно границы сердечной тупости в пределах возрастной нормы. ЧСС 132–160 ударов в минуту. Пульс на периферических артериях удовлетворительного наполнения. Гемодинамики ребенок стабилен без инотропной и вазопрессорной поддержки. АД 58/26 мм.рт.ст. (среднее АД 37 мм.рт.ст.).

**Диагностический алгоритм определения риска развития тяжелого состояния и летального исхода:**

В первые сутки жизни:

**1.** Уравнение множественной регрессии для 1 суток:

$$Y = 0,0658 + 0,1562 \cdot X_1 + 0,1632 \cdot X_2 - 0,0046 \cdot X_3 = 0,0658 + 0,1562 \cdot 2 + 0,1632 \cdot 4,9 - 0,0046 \cdot 156 = \mathbf{0,46}$$

$X_1$  - темп диуреза (1 сутки, мл/кг/час) - 2 мл/кг/час.

$X_2$  - лактат (1 сутки) - 4,9 мкмоль/л.

$X_3$  - ОАК: гемоглобин (1 сутки) - 156 г/л.

Округленное  $Y = 0$ .

**2.** Уравнение множественной регрессии для 3 суток:

$$Y = 1,4878 + 0,1271 \cdot X_1 - 0,1542 \cdot X_2 - 0,0123 \cdot X_3 = 1,4878 + 0,1271 \cdot 1,24 - 0,1542 \cdot 4,67 - 0,0123 \cdot 51,5 = \mathbf{0,26}$$

$X_1$  - лактат (3 сутки) - 1,24 мкмоль/л.

$X_2$  - ОАК: эритроциты (3 сутки) -  $4,78 \cdot 10^{12}$ /л.

$X_3$  - гематокрит (3 сутки) - 52,3 %.

Округленное  $Y = 0$ .

Результат расчетов  $Y$  в 1 и 3 сутки равен 0, то это свидетельствует о низком риске развития тяжелого состояния на 7 сутки жизни.

**3.** Определение риска летального исхода по концентрации ИЛ-8 в крови в 1 сутки жизни.

ИЛ-8 в 1 сутки жизни равен 124,3 пг/мл.

Уровень ИЛ-8 равен 124,3 пг/мл, что свидетельствует о низком риске летального исхода.

В связи с концентрацией ИЛ-8 в крови ребенка равной 124,3 пг/мл и результатом расчета Модели риска, значение  $Y$  равно 0, как в 1, так и 3 сутки жизни ребенок отнесен к группе низкого риска развития летального исхода.

### **Динамика состояния**

Количество баллов по шкале тяжести состояния NEOMOD на 1 сутки жизни равно 2, на 3 и 7 сутки - 0 баллов. С момента рождения находилась на DUOPAP. На 2 сутки переведена на NCPAP. С 3 суток жизни ребенок находился на спонтанном дыхании атмосферным воздухом. На 6 сутки жизни ребенок переведен в ОПН.

Данные клинические примеры иллюстрируют возможность применения диагностического алгоритма в прогнозировании тяжести состояния на 7 сутки жизни и летального исхода.

Таким образом, предложенные уравнения множественной регрессии для 1 и 3 суток жизни показывают высокую эффективность по отношению прогнозирования сохранения тяжелого состояния на 7 сутки жизни, в том числе высокого риска летального исхода. Предложенный алгоритм ранней диагностики высокого риска летального исхода у глубоко недоношенных детей позволяет своевременно обратить внимание на данную группу пациентов, с целью адекватного ведения таких детей как пациентов с высоким риском неблагоприятного исхода.

Несмотря на то что объем выборки (мощность) нашего исследования был статистически вычислен, в работе имелось некоторое ограничение по количеству пациентов. В дальнейшем изучение маркеров ССВО и цитокинового профиля целесообразно рассматривать на большем количестве пациентов.

## 6. Заключение

### Обсуждение полученных результатов клиническо-лабораторных показателей и маркеров эндотелиальной дисфункции у недоношенных детей

В нашем исследовании обнаружена обратная корреляционная связь тяжести состояния в 1 сутки жизни с показателями красной крови (эритроциты, гемоглобин, гематокрит) в 1, 3 и 7 сутки жизни, а также обратная взаимосвязь тяжести состояния в 7 сутки жизни с количеством эритроцитов и гемоглобина в 1 сутки жизни и количеством эритроцитов, гемоглобина и гематокрита в 3 сутки жизни.

Анализируя показатели ОАК в исследуемых группах в первые сутки жизни, обнаружены более низкие показатели эритроцитов и гемоглобина в группах с более тяжелым состоянием, оцениваемых по шкале NEOMOD.

Возможно, наблюдаемое нами более низкое количество эритроцитов у пациентов 2 и 3 групп (более тяжелое состояние) обусловлено истощением адаптационной системы плода, влиянием антенатальных факторов, в частности инфекции. Следовательно, выявленная склонность к анемии в первые сутки жизни может косвенно указывать на более тяжелое течение заболеваний по причине истощения резервов адаптации [86].

На 3 сутки жизни у детей 2 и 3 групп также определяются более низкие показатели эритроцитов, гемоглобина, гематокрита. Возможно, анемия усугубляется по причине потребления эритроцитов, в том числе на проведение анализов. При критическом, нестабильном состоянии возрастает потребность в регулярном контроле глюкозы и газового состава крови.

Обнаруженная прямая взаимосвязь данных шкал Сильвермана и Апгар с тяжестью состояния в 1 сутки жизни и прямая связь оценки по шкале Сильвермана с тяжестью состояния в 7 сутки жизни. Высокие значения оценки по шкале Сильвермана могут указывать на наличие морфологических особенностей респираторной системы, в частности РДС, пневмонии в патогенезе развития тяжелого состояния у глубоко недоношенных детей.

Выявленная более выраженная дыхательная недостаточность в виде высокой потребности в  $\text{FiO}_2$  во вдыхаемой воздушной смеси у детей 2 и 3 групп на 3 сутки жизни косвенно может указывать на реализацию врожденной пневмонии. Дыхательная недостаточность неизбежно повлекла нарастание тканевой гипоксии, в виде повышения показателей лактата в крови в этих группах детей. В нашем исследовании выявлена прямая связь тяжести состояния в 1 и 7 сутки с количеством лактата в 1, 3, 7 сутки. За реализацию врожденной пневмонии во 2 и 3 группах пациентов дополнительно свидетельствуют результаты анализа лейкоцитарной формулы, СРП и рентгенологического обследования.

Нами обнаружена прямая корреляционная связь тяжести состояния в 1 и 7 сутки жизни с количеством миелоцитов, юных и палочкоядерных нейтрофилов на 3 сутки жизни, лейкоцитов и миелоцитов на 7 сутки жизни, а также обратная связь с количеством лимфоцитов на 7 сутки указывают на наличие инфекционного процесса в патогенезе тяжелого состояния у глубоко недоношенных детей. Дети в 3 группе (с летальным исходом) имели достоверно более низкие значения лимфоцитов  $\text{Me} (\text{xJ-хК}) - 16,0 (9-40)$  по сравнению с детьми 1 группы  $\text{Me} (\text{xJ-хК}) - 44,0 (39-50)$  и 2 группы  $\text{Me} (\text{xJ-хК}) - 26,0 (15-38)$ . Полученные нами результаты подтверждаются в работе М.В. Дегтяревой (2008), где указано, что ранний неонатальный сепсис у недоношенных детей чаще проявляется лимфопенией, чем нейтропенией. Также в данной работе была обнаружена взаимосвязь лимфопении и неблагоприятного исхода [23].

Тяжесть состояния на 7 сутки жизни также имеет прямую взаимосвязь с СРП на 3 сутки, количеством лейкоцитов и нейтрофилов на 7 сутки, лейкоцитов на 28 сутки, а также обратная связь с количеством тромбоцитов на 7 сутки жизни может указывать на длительно текущий инфекционный процесс.

Достоверно высокое количество миелоцитов может указывать на тяжесть инфекционного процесса. Однако достоверно низкое процентное содержание сегментоядерных нейтрофилов на фоне отсутствия значимого различия в

количестве лимфоцитов, палочкоядерных и юных нейтрофилов также косвенно может свидетельствовать о течении CARs синдрома.

Наращение инфекционного процесса к 7 суткам жизни во 2 и 3 группах приводит к увеличению количества лейкоцитов и сегментоядерных нейтрофилов, а также снижению содержания эозинофилов и лимфоцитов. Данное наблюдение совпадает с данными других исследователей, например, В.Е. Предтеченский и соавторы описали снижение количества эозинофилов при сохраняющемся или нарастающем лейкоцитозе, объясняя это явление прогрессированием инфекционного процесса. А полное исчезновение эозинофилов вместе с уменьшением количества лимфоцитов является крайне неблагоприятным признаком. Однако наличие эозинофилов и лейкоцитоза при тяжелом состоянии можно рассматривать как благоприятный симптом, особенно увеличение количества эозинофилов при уменьшающемся лейкоцитозе [59]. Однако эозинофилия в 1 группе также может указывать на внутриутробное инфицирование с инактивацией эозинофилами избытка БАВ (цитокинов, гистамина, лейкотриенов) бактериального происхождения. В связи с чем эозинофилия у пациентов в тяжелом состоянии называется «красной зарей выздоровления» [59]. В нашем исследовании также обнаружена обратная корреляционная связь тяжести состояния на 7 сутки жизни и количеством эозинофилов в 1 и 7 сутки жизни, что подтверждает актуальность использования данного маркера в диагностике тяжести состояния у глубоко недоношенных детей. Данный результат можно объяснить тем, что в процессе выздоровления от инфекции в организме происходит активация второй стадии воспалительного ответа (CARs), которая характеризуется секрецией, в том числе эозинофилами противовоспалительных медиаторов [21].

В клинической практике регулярно встречаются случаи, когда у недоношенных детей после рождения наблюдается полиурия, которая купировалась в течение первой недели. Этиология полиурии плохо изучена, но в современных работах описываются две основные причины. Во-первых, сама почка является морфологически незрелой, что влияет на ее функцию; и во-

вторых, почечная дисфункция развившаяся в следствии перенесенной асфиксии может проявляться не анурией, а полиурией [161]. Данные научные наблюдения нашли подтверждение и в нашем исследовании. Нами обнаружена прямая корреляционная связь тяжести состояния в 1 сутки жизни с темпом диуреза в 1 сутки жизни и количеством белка в ОАМ на 3 сутки жизни.

В нашем исследовании выявлены достоверно более высокие темпы диуреза в 1 сутки жизни в группах детей, имеющих более тяжелое состояние по шкале NEOMOD. Известно, что в первые сутки жизни новорожденного ребенка нормальным диурезом считается 0,5-2 мл/кг/час [37]. Вероятней всего высокие темпы диуреза в группах с более тяжелым состоянием свидетельствуют о дисфункции гипофиза вследствие перинатального поражения ЦНС на фоне выраженной незрелости головного мозга. Гипоксия вызывает нейроэндокринные изменения, влияет на синтез альдостерона, ренина, антидиуретического гормона [69]. Выраженная незрелость ЦНС может сопровождаться недостаточностью антидиуретического гормона, что будет проявляться полиурией. Также одним из подтверждений наличия тканевой гипоксии, которая утяжеляет течение перинатального поражения ЦНС во 2 и 3 группах детей, является обнаружение высоких показателей лактата в крови в этих группах.

Обнаружена обратная корреляционная связь тяжести состояния в 1 сутки с количеством общего белка в биохимическом исследовании крови в 1 сутки, количеством альбумина и креатинина на 7 сутки жизни. Также выявлена обратная корреляционная связь тяжести состояния на 7 сутки жизни и количеством альбумина в 1, 7 и 28 сутки жизни, количеством белка в 7 и 28 сутки жизни и креатинина на 28 сутки жизни. Известно, что при развитии у недоношенных детей стрессовой реакции врач сталкивается со сложностью обеспечения значительного возрастания потребности организма в белке и энергии при выраженном угнетении функциональных возможностей кишечника. У таких пациентов часто наблюдается отрицательный азотистый баланс, что свидетельствует о высоком основном обмене на фоне недостаточного поступления белка и энергии. Таким

образом, при развитии стрессового состояния происходит потребление белков на фоне дефицита энергетических ресурсов [24].

Низкие значения протеинемии и альбуминемии при рождении, которые наблюдались в 3 группе, свидетельствуют о более высоких потребностях в белке у детей, находящихся в более тяжелом состоянии.

Достоверно более низкое содержание креатинина у детей 3 группы может быть объяснено белковой недостаточностью. Необходимо отметить, что в 3 группе отмечается гипопроteinемия на фоне дотации белка согласно принятым действующим протоколам энтерального и парентерального питания в РФ. Однако СКФ, креатинин и электролиты достоверно не отличались в сравниваемых группах. Высокие значения лактата на 7 сутки жизни свидетельствуют о сохраняющейся тканевой гипоксии в 3 группе.

К концу позднего неонатального периода (28 суток) во 2 группе пациентов (оценка по шкале NEOMOD 3 и более баллов в конце раннего неонатального периода) наблюдается повышенная потребность в протеинах.

Тяжесть состояния в 1 и 7 сутки жизни имеет прямую корреляционную связь с ИЛ-6 и ИЛ-8 и обратную корреляционную связь с VEGF на 7 и 28 сутки жизни, что подтверждает актуальность изучения клинической ценности данных маркеров у глубоко недоношенных детей, находящихся в тяжелом состоянии.

Увеличение содержания ИЛ-8 в крови в первые сутки жизни у новорожденных детей с тяжелым и крайне тяжелым состоянием в раннем неонатальном периоде может быть связано с антенатальной активацией цитокиновой системы плода, вплоть до «цитокинового шторма». Возможно, это послужило причиной того, что у 100% детей во 2 и 3 группах наблюдалась тяжелая дыхательная недостаточность, потребовавшая проведения ИВЛ, а среди детей 1 группы проведение вспомогательной вентиляции потребовало 45,8% детей, остальные дети потребовали неинвазивную респираторную поддержку (НСРАР, DUOPAP).

Известно, что ИЛ-8 является одним из интегральных факторов, указывающих на активацию нейтрофилов. Нами выявлено прогрессирующее

увеличение уровня ИЛ-6 и ИЛ-8 к 7 суткам жизни у детей с летальным исходом. Наши результаты выявили высокие концентрации провоспалительного цитокина (ИЛ-6) у детей с тяжелым и крайне тяжелым состоянием по шкале NEOMOD, однако в литературе описано снижение провоспалительных цитокинов к 3 суткам у недоношенных детей с врожденной пневмонией вследствие истощения иммунной системы [76]. Возможно, высокие концентрации ИЛ-6 и ИЛ-8 в полученных нами результатах объясняются развитием полиорганной недостаточности, так как самые высокие показатели обнаружены в 3 группе (дети с летальным исходом). Данная версия нашла подтверждение в работе Н.Д. Рагимова (2019). Автор указывает, что развитие полиорганных нарушений (поражение 3 и более органов) сопровождается выраженной иммунологической реакцией у новорожденных с перинатальными инфекциями различной этиологии, проявляющейся достоверно высокими показателями провоспалительных интерлейкинов (ИЛ-1 $\beta$  в 5,5 раз; ИЛ-6 в 5,4 раза; ФНО $\alpha$  в 3 раза) по сравнению с контрольной группой недоношенных детей [66].

Низкие значения VEGF в крови у новорожденных детей первых 3 суток жизни коррелируют со среднетяжелым и тяжелым течением РДС. На фоне тяжелого течения РДС происходит нарастание гипоксии, которая приводит к торможению альвеоляризации и васкуляризации тканей [41]. Однако в нашем исследовании достоверных различий в показателях VEGF в исследуемых группах в 1 и 3 сутки жизни обнаружено не было. Возможно, данные результаты обусловлены однородностью исследуемых групп относительно сопутствующей патологии при рождении.

Низкие показатели VEGF свидетельствуют о более выраженном нарушении секреторной функции эндотелия на фоне более тяжелого состояния, оценка которого проводилась по шкале NEOMOD. Наши результаты подтверждаются работами других авторов. Например, в своей работе И.В. Михаленко, исследуя детей с ЭНМТ в месячном возрасте, указывает, что у при тяжелой церебральной патологии развивается вазоконстрикция с нарушением ревазуляризации мозговой ткани. Данный процесс сопровождается снижением содержания VEGF в

крови. Патологический процесс, приводящий к нарушению мозговой перфузии, в сочетании с несовершенным ангиогенезом, проявляющимся сниженным VEGF, приводят к нарушению кровоснабжения перивентрикулярной области, что провоцирует развитие перивентрикулярного отека и перивентрикулярного кровоизлияния [46].

Современной науке известен маркер воспаления – цитокин МСР-1, который является важным фактором хемотаксиса моноцитов в очаг воспаления [82]. В нашей работе изучались прогностические свойства данного маркера у глубоко недоношенных детей, но достоверных отличий в исследуемых группах с использованием критерия Краскела-Уоллиса обнаружено не было. Нами были обнаружены корреляционные связи концентрации МСР-1 с другими интерлейкинами ИЛ-6 и ИЛ-8, что указывает на системность в изменении уровня цитокинов. Связь концентрация МСР-1 с количеством моноцитов, тромбоцитов, СРП вероятней всего обусловлена большим количеством клеток, способных синтезировать МСР-1: макрофаги, моноциты, лейомиоциты, эндотелиоциты, фибробласты, кортикальные эпителиоциты почки, адипоциты печени, интестинальные эпителиоциты, остеобласты, хондроциты и другие клетки [82]. Прежде всего синтезируемыми МСР-1 клетками являются лейкоциты, количество которых, как и концентрация СРП, увеличивается при борьбе организма с инфекцией.

Нами обнаружена взаимосвязь тяжести состояния в 1 сутки жизни с ВАКТ в эндотелиальном диапазоне во время тепловой пробы на 3 сутки жизни и прямая связь тяжести состояния в 7 сутки с ВАКТ в эндотелиальном диапазоне без тепловой пробы. Это может свидетельствовать о взаимном влиянии нарушения микроциркуляции и тяжести состояния. Известно, что преждевременные роды и любые инвазивные вмешательства в перинатальном периоде влияют на процесс адаптации организма и могут приводить к значительным изменениям в системной или регионарной перфузии [161].

Новая методика диагностики нарушений функции эндотелия с использованием ВАКТ с проведением тепловой пробы позволила выявить в

исследуемых группах на 7 сутки жизни статистическое различие амплитуд колебаний в эндотелиальном диапазоне при нормальной температуре тела ( $N=6,034$ ;  $p=0,0489$ ).

Известно, что при гипоксии эндотелиальные клетки повреждаются в первую очередь, однако особенности реакций эндотелиальных клеток на гипоксию мало изучены. Наши результаты свидетельствуют о повышении активности регуляции микроциркуляции эндотелиальными клетками, что совпадает с результатами современных научных работ. Описываются результаты, свидетельствующие, что в ответ на гипоксию происходит не угнетение, а увеличение активности эндотелиальных клеток. В частности, в ответ на гипоксию происходит активация эндогенной продукции эндотелиальными клетками комплемента C3, фактора Виллебранда [124]. Обнаруженные нами высокие показатели амплитуды изменения кожной температуры в эндотелиальном диапазоне регуляции микроциркуляции в 3 группе, по сравнению с 1 группой на 7 сутки жизни, вероятно, свидетельствуют о дисфункции эндотелия, проявляющейся повышенной активностью регуляции тонуса микрососудов эндотелиальными клетками.

Отсутствие различий в амплитудах изменения кожной температуры при проведении тепловой пробы может указывать на выраженную незрелость механизмов терморегуляции, которая косвенно подтверждается высокой термолабильностью данной категории детей.

**Обсуждение полученных результатов, по сравнительной оценке, полиморфных маркеров генов у недоношенных детей в тяжелом состоянии в неонатальном периоде и женщин с преждевременными родами**

Частота встречаемости гомозиготы по 1 аллели C1291C гена ADRA2A у глубоко недоношенных детей 73,2%, а полиморфизма G1291G – 4,9%. Частота аминокислотного положения Gly389Gly гена ADRB1 наблюдалась у 17,1% детей. Доля детей с полиморфизмами Gly16Gly гена ADRB2 составила 9,8%. У женщин, имеющих преждевременные роды, частота встречаемости Gly16Gly отмечалась в

31,6% случаев, а у женщин, родивших в срок, в 23,3% случаев. У матерей с наличием полиморфизма Gly16Gly гена ADRB2 ни один ребенок данный полиморфизм не унаследовал. Полиморфизмы гена VEGF имели следующую частоту: полиморфизм A2578A – 17,1%; C634C – 2,44%; гомозигота по 1 аллели C936C – 65,9%, а полиморфизм T936T – 0%.

Сравнение женщин, родивших глубоко недоношенных детей, и женщин контрольной группы выявил влияние аллели Arg16Gly гена  $\beta$ 2-адренорецептора на возникновение преждевременных родов (Хи-квадрат = 6,76;  $p < 0,034$ ). Известно, что  $\beta$ 2-рецепторы располагаются на мембранах клеток эффекторных тканей вне синапсов, также они находятся на окончаниях пресинаптических мембран адренергических волокон сосудов, матки, мочевого пузыря. Основными эффектами, связанными с возбуждением  $\beta$ 2 адренорецепторов, являются вазодилатация, снижение ОПСС, расслабление миометрия, усиление гликогенолиза, глюконеогенеза, снижение синтеза гликогена [12]. Наличие аллели Arg16Gly  $\beta$ 2-адренорецептора у матери может указывать на высокий риск развития преждевременных родов.

С учетом того, что  $\beta$ 2-адренорецепторы в большом количестве представлены на клетках мышечной ткани матки и на сосудах, а одним из эффектов стимуляции  $\beta$ 2-адренорецепторов является вазодилатация [12], то логично предположить, что наличие полиморфизма гена ADRB2 может влиять на функцию соответствующих рецепторов, что в свою очередь может привести к дисциркуляторным расстройствам маточно-плацентарного кровотока. Исследование показало взаимосвязь наличия полиморфизма Gly16Gly гена ADRB2 у женщин с преждевременными родами с клинико-лабораторными показателями, такими как уровень креатинина и СКФ в 1-е сутки жизни, а также СКФ и темп диуреза на 7-е сутки жизни. Данные результаты могут косвенно подтверждать нашу гипотезу.

$\beta$ 2-рецепторы также находятся на клеточных мембранах гладких мышц и сосудах скелетных мышц [74]. В данном исследовании обнаружена обратная связь наличия полиморфизма  $\beta$ 2-адренорецепторов и результатов ВАКТ без

тепловой пробы в миогенном диапазоне регуляции микроциркуляции в конце неонатального периода. Эта находка может помочь в изучении оптимальных температурных условий для выхаживания глубоко недоношенных детей. Компенсаторный механизм вазоконстрикции преимущественно кожных артериовенозных шунтов развит у новорожденных с рождения, однако ауторегуляторная способность крайне незрелая. Эти особенности делают глубоко недоношенных новорожденных особенно восприимчивыми к нарушениям микроциркуляции [140]. Кокрейновский обзор показал, что поддержание оптимальной температуры тела у глубоко недоношенных детей все еще играет важную роль в снижении смертности [179]. Логично предположить, что влияние полиморфизма  $\beta 2$ -рецепторов, расположенных на гранулоцитах, может снижать фагоцитарную активность последних и приводить к компенсаторному их увеличению, что косвенно может подтверждаться обнаруженной в нашем исследовании у детей взаимосвязью наличия полиморфизма  $\beta 2$ -рецепторов с показателями ОАК.

Щелочная фосфатаза в крови – это фермент, являющийся катализатором процессов расщепления эфиров фосфорной кислоты. Данный показатель позволяет оценить работу печени, почек и желчных протоков, состояния костной ткани [47]. Обнаруженная нами взаимосвязь наличия полиморфизма  $\beta 2$ -адренорецепторов с количеством щелочной фосфатазы крови, альбумина и темпом диуреза указывает на перспективность изучения влияния полиморфизма  $\beta 2$ -адренорецепторов на физиологические процессы у глубоко недоношенных детей.

Нами обнаружена взаимосвязь наличия полиморфизма Gly389Arg  $\beta 1$ -адренорецепторов с темпом диуреза на 7 сутки жизни ( $R = -0,336$ ;  $p = 0,0487$ ), что вероятней всего обусловлено анатомо-физиологическими особенностями почек. Известно, что  $\beta 1$ -рецепторы также локализируются в почечной ткани и их стимуляция увеличивает выброс ренина юкстагломерулярным аппаратом почек [54]. Можно предположить, что мутация гена ADRB1 способна влиять на выделительную функцию почек у глубоко недоношенных детей.

Известно, что к эффектам альфа-адренорецепторов относятся уменьшение секреции ренина, увеличение реабсорбции натрия и воды в проксимальных канальцах, стимуляция реабсорбции Na и воды в кишечнике [36]. Гипонатриемия является самым частым расстройством электролитного обмена у пациентов в стационаре. По литературным данным, летальность при тяжелой гипонатриемии существенно выше, чем у пациентов без гипонатриемии, при этом рост летальности является экспоненциальным по мере снижения уровня натрия. Необходимо указать на то, что осложнения, вплоть до гибели пациента, наблюдаются как при сохраняющейся гипонатриемии, так и на фоне проводимой коррекции, в связи с чем сохраняется высокая актуальность в изучении патофизиологии и инструментов терапевтического воздействия на данный синдром [79]. Результаты нашего исследования подтверждают взаимосвязь наличия полиморфизма C>G ADRA2A с низким содержанием натрия в крови, что подтверждает необходимость дальнейшего изучения влияния полиморфизмов генов альфа2-адренорецепторов на предрасположенность к гипонатриемии у глубоко недоношенных детей. Также влияние альфа-адренорецепторов на активность симпатoadреналовой системы и повышение тонуса блуждающего нерва косвенно подтверждается наличием связи полиморфизма ADRA2A на результаты ВАКТ.

Наше исследование направлено на выявление влияния полиморфизмов генов VEGF на физиологические процессы у ребенка сразу после рождения, в конце раннего и позднего неонатального периода. Обращает на себя внимание наличие прямой связи полиморфизма G>C -634 гена VEGF с ВАКТ без тепловой пробы в эндотелиальном диапазоне регуляции микроциркуляции в конце неонатального периода, что может указывать на особенности работы эндотелия в период окончания неонатальной адаптации у глубоко недоношенных детей [58].

## **Обсуждение полученных результатов по статистическому моделированию клинико-лабораторных факторов в развитии тяжелого состояния у недоношенных детей**

Современная медицина взяла курс на создание стандартизированных моделей оценки состояния. Данный подход позволяет в баллах измерять тяжесть патологических состояний, таких как недоношенность, дыхательная недостаточность, органические дисфункции, а также позволяет оценить тяжесть состояния, определить прогноз для жизни. Существует большое количество модернизированных шкал, однако шкал, предназначенных для недоношенных детей, крайне мало. Многие шкалы, предназначенные для доношенных новорожденных, используются и у недоношенных с некоторыми корректировками. В частности, широко используемая шкала Апгар за счет анатомо-физиологических особенностей глубоко недоношенных детей дает ложно заниженные значения [88].

Специально созданных шкал для глубоко недоношенных детей крайне мало, широко известна только одна шкала тяжести NEOMOD [51], да и то широкого применения в клинической практике в Российской Федерации она не нашла. Несмотря на то что данная шкала оценивает всего 7 показателей, трудности для ежедневного использования данной шкалы составляют оценки неврологической системы и КЩС. К сожалению, в Российской Федерации даже во многих родильных домах III уровня отсутствует возможность проведения ежедневного УЗИ. В выходные и праздничные дни дежурных врачей ультразвуковой диагностики обычно не бывает, а в родильных домах II уровня ситуация оказания помощи еще сложнее. Ребенок, родившийся во второй половине дня в пятницу, как минимум 3 дня не может быть оценен по данной шкале даже в родильных домах III уровня. Круглосуточное проведение КЩС чаще всего доступно только в родильных домах III уровня, что также ограничивает возможность использования данной шкалы. Шкала актуальна для оценки тяжести органических дисфункций у новорожденных в условиях неонатальной реанимации, где есть необходимость

оценить ежедневно КЩС и проводить НСГ в первые сутки поступления вне зависимости от дня недели.

С позиции клинического врача, от себя могу также перечислить ряд диагностических трудностей, с которыми мне пришлось столкнуться.

Во-первых, изучение мочевыделительной системы на 1–2 сутки может дать ложно завышенное количество баллов за счет анатомо-физиологических особенностей новорожденных детей. Известно, что в первые сутки жизни новорожденного ребенка нормальным диурезом считается даже 0,5 мл/кг/час [37].

Во-вторых, система гемостаза у недоношенных детей плохо изучена, а причины развития тромбоцитопении в крови у новорожденных детей весьма разнообразны. Это могут быть как материнские причины, например, поздний гестоз, так и со стороны ребенка: иммунопатологические процессы, внутриутробные инфекции, асфиксия в родах и другие заболевания [27]. Однако в клинической практике приходится часто сталкиваться с тромбоцитопениями, развившимися вследствие применения некоторых лекарственных препаратов. Например, при использовании линезолида у глубоко недоношенных детей достаточно часто встречается тромбоцитопения (согласно инструкции по применению препарата), что также снижает достоверность шкалы.

В-третьих, такой показатель КЩС, как ВЕ, может быть изменен за счет использования гидрокарбоната натрия, что позволит снизить проявления метаболического ацидоза, но на причину патологического процесса практически никак не повлияет. Однако при такой легкой возможности влияния на данный показатель он имеет одинаковую ценность с оценкой таких систем, как дыхательная и сердечно-сосудистая.

В-четвертых, помимо описанных выше технических сложностей в оценке центральной нервной системы, существует еще одна клиническая особенность. В острейший период произошедшего ВЖК, после стабилизации состояния, а также в восстановительный период центральная нервная система оценивается одинаковым количеством баллов, что не является оправданным с позиции врача-клинициста.

Глубоко недоношенные дети должны рождаться в учреждениях III уровня, находиться в отделении реанимации, где должно быть оборудование, необходимое для мониторинга органических дисфункций. Однако глубоко недоношенные дети регулярно рождаются в родильных домах I и II уровней в связи с территориальной удаленностью областных родильных домов, а также в ряде случаев с невозможностью пролонгировать беременность. Поэтому в практической неонатологии сохраняется потребность в простой, но эффективной шкале оценки тяжести состояния, желательной обладающей прогностическими свойствами. Изучая предикторное значение клинико-лабораторных маркеров у глубоко недоношенных детей, нам удалось предложить две прогностические модели, имеющие хорошие показатели адекватности. Особенностью данных моделей является практическая круглосуточная доступность во всех родильных домах I, II и III уровней.

### **Обсуждение прогностических маркеров тяжести состояния у недоношенных детей**

Используемые в Модели риска показатели общедоступны, рутинны, что позволяет в первые сутки жизни выявить группу риска из числа глубоко недоношенных детей, угрожаемых по развитию тяжелого состояния с высоким риском летального исхода. Использование данных уравнений позволяет заподозрить необходимость в проведении дополнительной диагностики и назначить адекватную терапию детям высокого риска неблагоприятного исхода. Учитывая охранительный режим и желание врача минимизировать количество инвазивных исследований у глубоко недоношенных новорожденных детей, в группе высокого риска летального исхода необходимо рассмотреть целесообразность в дополнительном проведении бактериологического исследования биологических жидкостей стерильных локусов, оценить возможность повторного бактериологического исследования крови. Такие дети должны получать адекватную антибактериальную терапию. Необходимо рассмотреть целесообразность коррекции антибактериальной терапии на 3 сутки

жизни. Учитывая, что в последние годы частота встречаемости МРС флоры стремительно возрастает, в группе детей высокого риска неблагоприятного исхода целесообразно рассмотреть возможность назначения антибиотиков широкого спектра действия, в том числе препаратов, способных подавлять МРС флору.

Внутриутробное инфицирование приводит к повреждению эритроцитов и истощению адаптационных резервов [69]. Принято считать анемией у новорожденных детей в первые сутки жизни снижение уровня гемоглобина ниже 150 г/л (в капиллярной крови), количества эритроцитов меньше  $4,5 \cdot 10^{12}/л$  и гематокрите менее 40% [135]. В исследовании нами обнаружено, что пороговое значение гемоглобина в первые сутки жизни, влияющее на прогноз, составило 143 г/л и менее. Анемия у новорожденного приводит к нарастанию тканевой гипоксии, а следовательно, к увеличению лактата. Нормы концентрации лактата для глубоко недоношенных детей в литературных источниках колеблются. Максимальное значение лактата варьирует от 1,6 мкмоль/л [49] до 2,5 мкмоль/л [84]. Результаты нашего исследования совпали с литературными данными, гиперлактатемия 2,4 мкмоль/л и более обладает прогностической ценностью. Полиурией принято считать темп диуреза, в 2–3 раза превышающий возрастную норму, т.е. увеличение диуреза более 5 мл/кг/час [69]. По результатам нашего исследования, с учетом физиологической олигурии новорожденных детей в первые сутки жизни темп диуреза 5,7 мл/кг/час и более имеет прогностическую ценность.

Традиционные инфекционно-воспалительные биомаркеры, такие как ПКТ и СРП, в первые сутки жизни у глубоко недоношенных новорожденных часто оказываются неэффективными в прогнозировании инфекционно-воспалительных процессов, а следовательно, актуальность Модели риска особенно для 1 суток жизни достаточно высока.

## Выводы

1. Более тяжелое состояние на 7 сутки жизни по шкале NEOMOD у глубоко недоношенных детей в 1 сутки жизни сопряжено с низкой концентрацией гемоглобина (Me (xJ-xK) – 139,5 г/л (130,0–148,0), p=0,02), увеличенным темпом диуреза (Me (xJ-xK) – 5,50 мл/кг/час (4,00–8,00); p=0,047), высоким уровнем лактата (Me (xJ-xK) – 2,78 мкмоль/л (0,83–5,84), p=0,0419), в 3 сутки жизни – со сниженным количеством эритроцитов (Me (xJ-xK) –  $3,34 \times 10^{12}$ /л (2,40–4,23); p=0,0001), низким гематокритом (Me (xJ-xK) – 35,7 % (27,7–49,7); p=0,0002), высоким уровнем лактата (Me (xJ-xK) – 2,43 мкмоль/л (1,25–5,08); p=0,0068), что позволяет рассматривать данные показатели в качестве прогностических маркеров. Концентрация интерлейкина-8 более 124,3 пг/мл в первые сутки жизни характерна для группы недоношенных с высоким риском неблагоприятного исхода в ОРИТ (чувствительность 87,5%, специфичность 80,6%).

2. Более высокие показатели амплитуды изменения кожной температуры в эндотелиальном диапазоне регуляции микроциркуляции на 7 сутки жизни характерны группе недоношенных детей с летальным исходом (Me (xJ-xK) – 2,00 (1,00–4,30); p=0,0489), по сравнению с детьми, имеющими оценку по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни менее 3 баллов (Me (xJ-xK) – 1,05 (0,89–1,20); p=0,0143), и детьми, имеющими оценку по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни 3 и более баллов (Me (xJ-xK) – 1,20 (0,88–1,40); p=0,0243).

3. Частота встречаемости полиморфизма G1291G гена ADRA2A у глубоко недоношенных детей составила 4,9%; аллельная частота встречаемости полиморфизма Gly16Gly гена ADRB2 у недоношенных детей – 9,8%; частота встречаемости полиморфизма C634C гена VEGF у глубоко недоношенных детей составила 2,44%. Частота встречаемости полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 у матерей, имеющих преждевременные роды, составила 31,6%, что выше, чем у контрольной группы 23,3% (P<0,034) (женщины, родившие в срок и не имеющие в анамнезе преждевременных родов).

4. Полиморфизм C-1291G гена ADRA2A у детей взаимосвязан с их миогенной и нейрогенной регуляцией микроциркуляции в первые сутки жизни, а

также с количеством общего белка в 7 и 28 сутки жизни. Наличие полиморфизма Gly389Arg гена ADRB1 коррелирует с темпом диуреза в конце раннего неонатального периода (7 сутки жизни). Полиморфизм Arg16Gly гена ADRB2 связан с темпом диуреза и миогенной регуляцией микроциркуляции в 28 сутки жизни. Наличие полиморфизма Gly16Gly  $\beta$ 2-адренорецептора у матери связано с состоянием мочевыделительной системы ребенка в раннем неонатальном периоде (уровень креатинина, СКФ и темп диуреза).

5. У глубоко недоношенных детей, имеющих оценку по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни 3 и более баллов, отмечается низкая концентрация VEGF в крови на 7 сутки жизни по сравнению с недоношенными детьми, у которых оценка по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни менее 3 баллов (407,00: 0,00-1034,70 пг/мл и 881,10: 446,10-981,70 пг/мл соответственно;  $p=0,0299$ ). Установлена обратная взаимосвязь концентрации белка ангиогенеза VEGF с тяжестью состояния ( $R=-0,480$ ;  $p=0,0020$ ).

6. Определены прогностические маркеры риска неблагоприятного исхода, включающие показатели цитокинового статуса и ССВО. Разработанная модель риска летального исхода – диагностически значима в первые сутки жизни (чувствительность – 90,0%; специфичность – 92,3%; показатель воспроизводимости – 81,8%; показатель соответствия – 91,3%) и в 3 сутки жизни (чувствительность – 90,0%; специфичность – 100,0%; показатель воспроизводимости – 90,0%; показатель соответствия – 95,7%). Округленный результат уравнения множественной регрессии (Модель риска)  $Y$ , равный 1, свидетельствует о высокой вероятности сохранения тяжелого состояния к 7 суткам жизни, в том числе о высоком риске летального исхода в ОРИТ.

## Практические рекомендации

1. Для прогнозирования тяжести состояния в раннем неонатальном периоде и риска летального исхода у глубоко недоношенных новорожденных детей в 1 и 3 сутки жизни необходимо произвести расчеты по уравнению множественной регрессии:

1). Уравнение множественной регрессии для 1 суток:

$$Y = 0,0658 + 0,1562 \cdot X_1 + 0,1632 \cdot X_2 - 0,0046 \cdot X_3$$

$X_1$  - темп диуреза (1 сутки, мл/кг/час),

$X_2$  - лактат (1 сутки, мкмоль/л),

$X_3$  - ОАК: гемоглобин (1 сутки, г/л).

2). Уравнение множественной регрессии для 3 суток:

$$Y = 1,4878 + 0,1271 \cdot X_1 - 0,1542 \cdot X_2 - 0,0123 \cdot X_3$$

$X_1$  - лактат (3 сутки, мкмоль/л),

$X_2$  - ОАК: эритроциты (3 сутки,  $10^{12}$ /л),

$X_3$  - гематокрит (3 сутки, %).

Рассчитанное значение  $Y$  необходимо округлить до целого.

$Y$  – прогнозируемое значение тяжелого течения критического состояния на 7 сутки жизни, в т.ч. летальности в раннем периоде.

Если округленное значение  $Y$  равно 0, то данный результат указывает на низкую вероятность сохранения тяжелого состояния к концу неонатального периода, а если  $Y$  равна 1, то это свидетельствует о высокой вероятности как тяжелого состояния, так и летального исхода.

2. Для прогнозирования риска летального исхода у глубоко недоношенных новорожденных детей в 1 сутки жизни необходимо определить в крови новорожденного ребенка уровень ИЛ-8.

Если у ребенка концентрация ИЛ-8 в крови меньше или равно 124,3 пг/мл, то у такого ребенка риск летального исхода низкий. Если уровень ИЛ-8 больше 124,3 пг/мл в первые сутки жизни, то это указывает на высокий риск неблагоприятного исхода в неонатальном периоде.

3. Использовать алгоритм оценки прогнозирования тяжести состояния в раннем неонатальном периоде и риска летального исхода у глубоко недоношенных новорожденных детей с определением группы риска летального исхода:

*Группа низкого риска развития летального исхода.*

А) Значение  $Y$  при использовании Модели риска 1 суток жизни равно 0.

Б) Подтверждение низкого риска развития тяжелого состояния производится на 3 сутки жизни. Значение  $Y$  при использовании Модели риска 3 суток жизни также равно 0.

В) Концентрация ИЛ-8 в 1 сутки жизни в крови меньше или равно 124,3 пг/мл.

*Группа среднего риска развития летального исхода.*

А) Концентрация ИЛ-8 в 1 сутки жизни в крови меньше или равно 124,3 пг/мл.

Б) Значение  $Y$  при использовании Модели риска равно 1.

Либо:

А) Концентрация ИЛ-8 в 1 сутки жизни в крови больше 124,3 пг/мл.

Б) Значение  $Y$  при использовании Модели риска равно 0.

*Группа высокого риска развития летального исхода.*

А) Концентрация ИЛ-8 в 1 сутки жизни в крови больше 124,3 пг/мл.

Б) Значение  $Y$  при использовании Модели риска равно 1.

### **Перспективы дальнейшего изучения проблемы**

Проведенные исследования не охватывают весь возможный объем изучения маркеров ССВО и цитокинового профиля у глубоко недоношенных в тяжелом состоянии, в связи с чем актуальность дальнейшего поиска предикторной ценности клинико-лабораторных и инструментальных методов остается крайне высокой.

Изучение частоты встречаемости полиморфизмов различных генов, способных влиять на тяжесть течения заболеваний, в данном исследовании не охватывает всей широты возможных исследований всего аллельного разнообразия доступных для исследования генов.

В настоящее время является перспективным и планируется дальнейшее изучение неинвазивной методики ВАКТ, позволяющей выявить морфофункциональные особенности нейrogenного, миогенного и эндотелиального влияния на регуляцию микроциркуляции.

Также планируется продолжение апробации и совершенствование предложенной в работе Модели риска. Внедрение данного диагностического алгоритма в другие родильные дома позволит сократить количество времени для получения данных, на другой выборке, по чувствительности и специфичности изучаемой Модели риска.

### Список сокращений

АД – артериальное давление

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспаргатаминотрансфераза

БЛД – бронхолегочная дисплазия

ВАКТ – вейвлет-анализ колебаний кожной температуры

ВЖК – внутрижелудочковое кровоизлияние

ВПС – врожденный порок сердца

ВЧОИВЛ – высокочастотная осцилляторная искусственная вентиляция легких

ГБУЗ – государственное бюджетное учреждение здравоохранения

ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИЛ 1  $\beta$ , 4, 6, 8, 10, 13, 19 – интерлейкин – 1  $\beta$ , 4, 8, 10, 13, 19

ИФА – иммуноферментный анализ

ИЯСН – индекс ядерного сдвига нейтрофилов

миРНК – МикроРНК

КЩС – кислотно-щелочного состояние

ОАК – общий анализ крови

ОАМ – общий анализ мочи

ОАП – открытый артериальный проток

ОНМТ – очень низкая масса тела

ОПН – отделение патологии новорожденных

ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция

ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

ПВЛ – перивентрикулярная лейкомаляция

ППЦНС – перинатальное поражение центральной нервной системы

ПКТ – прокальцитонин

- РДС – респираторный дистресс-синдром
- СКФ – скорость клубочковой фильтрации
- СПОН – синдром полиорганной недостаточности
- СРП – С-реактивный протеин
- ССВО – синдром системного воспалительного ответа
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухолей альфа
- ЦНС – центральная нервная система
- ЧСС – частота сердечных сокращений
- ЩФ – щелочная фосфатаза
- ЭНМТ – экстремально низкая масса тела
- НЭК – некротический энтероколит
- ADRA2A – ген, кодирующий  $\alpha$ 2A-адренергический рецептор
- ADRB1 – ген, кодирующий  $\beta$ 1-адренергический рецептор
- ADRB2 – ген, кодирующий  $\beta$ 2-адренергический рецептор
- BE – (base excess) – рассчитанный дефицит либо избыток оснований
- CARS (compensatory anti-inflammatory response syndrome) – синдром компенсаторного противовоспалительного ответа
- CD14, 16 – мембранный гликозилфосфатидилинозитол-связанный белок 14, 16
- CRIB II (Clinical Risk Index for Babies) – индекс клинического риска для детей раннего возраста II
- DUOPAP (Duo Positive Airway Pressure) – режим двойного положительного давления в дыхательных путях
- $\text{HCO}_3$  – гидрокарбонатный ион
- ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule-1) – молекула межклеточной адгезии
- $\text{FiO}_2$  – фракционная концентрация кислорода во вдыхаемой газовой смеси
- MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein 1) – моноцитарный хемотаксический протеин

NCPAP – (Nose Constant Positive Airway Pressure) постоянное положительное давление в конце выдоха

NEOMOD (Neonatal Multiple Organ Dysfunction Score) – шкала неонатальной полиорганной дисфункции

$p\text{CO}_2$  – парциальное давление углекислого газа

pH (pondus Hydrogenii) – водородный показатель

$p\text{O}_2$  – парциальное давление кислорода

SNAPPE II – перинатальная шкала острого состояния новорожденного II

$\text{SpO}_2$  – насыщение (сатурация) крови кислородом

TLR – толл-подобный рецептор

VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule-1) – сосудистая молекула клеточной адгезии-1

VEGF (vascular endothelial growth factor) – фактор роста эндотелия сосудов

### Список литературы

1. Александрович, Ю. С. Оценочные и прогностические шкалы в медицине критических состояний / Ю. С. Александрович, В. И. Гордеев. – СПб.: Сотис, 2007. – 140 с.
2. Анализ полиморфных маркеров ДНК для прогноза осложнений беременности: методическое пособие по молекулярной генетике / Л.М. Самоходская, Е.Ю. Андреевко, А.В. Балацкий, П.И. Макаревич, О.Н. Садекова, Л.А. Никитина, Е.М. Демидова. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 2009. – 40 с.
3. Анализ структуры критических состояний у новорожденных с врожденными пороками сердца / О.В. Бавыкина, И.В. Демина, Е.А. Белова, О.Е. Ельчанинова, О.В. Славнова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – Т.61, № 3. – С. 141–142.
4. Анзоров, В. А. Уровень общего белка и продуктов его распада в процессе адаптации студенток к учебе / В. А. Анзоров, С. В. Морякина // Международный научно-исследовательский журнал. – 2017. – № 4 (58(1)). – С. 6–8.
5. Ахметшин, Р.З. Полиморфизм генов ренин-ангиотензивной системы у детей с пороками развития мочевыводящей системы / Р.З. Ахметшин, А.Х. Нургалиева, П.И. Миронов // Экспериментальная и клиническая урология. – 2019. – № 2. – С. 140–145.
6. Белоусова, Т.В. Факторы риска развития тромботических осложнений у детей, перенесших критические состояния при рождении / Т.В. Белоусова, А.А. Леонова, В.А. Плюшкин // Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2017. – № 3. – С. 95–100.
7. Бокерия, Е.Л. Открытый артериальный проток – «Добро и зло в одном сосуде»(обзор литературы) / Е.Л. Бокерия, Е.А. Дегтярева // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2017. – Т.21, № 2. – С. 163–170.

8. Борзилова, Ю.А. Васкулоэндотелиальные факторы роста (VEGF): роль и место в патологических процессах / Ю.А Борзилова, Л.А. Болдырева, И.В. Шлык // Вестник офтальмологии. – 2016. – № 132(4). – С. 98–103.

9. Брыксина, Е.Ю. Патогенетические аспекты перинатальных поражений центральной нервной системы недоношенных детей / Е.Ю. Брыксина // Вестник российских университетов. Математика. – 2013. – Т. 18, № 6 (2). – С. 3312–3314.

10. Буданов, П.В. Этиология, патогенез, диагностика и лечение внутриутробной инфекции / П.В. Буданов, А.Н. Стрижаков // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2010. – № 9(3). – С. 61–71.

11. Бударова, К.В. Возможности ROC-анализа в интенсивной терапии новорожденных / К.В. Бударова, А.Н. Шмаков, С.И. Сирота // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2017. – Т. 19, № 6. – С. 88–92.

12. Буланова Е., Драпкина О., Попова И. Трудный выбор  $\beta$ -адреноблокаторов в клинической практике / Е. Буланова, О. Драпкина, И. Попова // Врач. – 2012. – № 8. – С. 40–43.

13. Вельков, В.В. Пресепсин – ранний и высокоспецифичный маркер сепсиса: новые возможности / В.В. Вельков // Клинико-лабораторный консилиум. – 2014. – № 3(50). – С. 1–28.

14. Виноградова, И.В. Состояние здоровья детей с экстремально низкой массой тела при рождении в отдаленные периоды жизни / И.В. Виноградова, М.В. Краснов // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – № 6(1). – С. 20–25.

15. Влияние полиморфизма гена ADRB2 на эффективность и безопасность токолитической фармакотерапии  $\beta$ 2-адрено-миметиками у беременных с преждевременными родами / Г.Ф. Проклова, Р.А. Чилова, Е.А. Сокова, Р.Е. Казаков, Э.В. Жукова, К.О. Акопов, Н.С. Трифонова // РМЖ. Мать и дитя. – 2020. – Т. 3, № 3. – С. 194–197.

16. Влияние полиморфных вариантов генов, кодирующих симпатoadреналовую систему, на фенотипические проявления у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией / С.М. Комиссарова, С.С. Ниязова,

Н.Н. Чакова, О.В. Красько // Российский кардиологический журнал. – 2015. – № 6 (122). – С. 75–80.

17. Возможности прогнозирования развития критических состояний у новорожденных в зависимости от состояния здоровья матери / О.Б. Жидкова, Е.А. Курзина, Д.О. Иванов, Ю.В. Петренко // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2012. – № 4. – С. 213–216.

18. Гавриленко, А.В. Комплексное лечение пациента с болезнью Бюргера с применением генно-инженерных конструкций VEGF-165 / А.В. Гавриленко, Е.М. Олейник // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2019. – № 25(1). – С. 177–180.

19. Ген  $\alpha_2\alpha$ -адренорецептора и личностные особенности у подростков с эссенциальной артериальной гипертензией / А.С. Косовцева, Л.И. Колесникова, Л.В. Рычкова, В.М. Поляков, Т.А. Баирова // Педиатрия. Журнал им. ГН Сперанского. – 2017. – Т. 96, № 3. – С. 34–39.

20. Генетический полиморфизм. Значение. Методы исследования / Д.В. Леонов, Е.М. Устинов, В.О. Деревянная, В.М. Кислицкий, С.К. Самсонова, М.Е. Алаторцева, Е.А. Бородин // Амурский медицинский журнал. – 2017. – № 2 (18). – С. 62–67.

21. Гущин И.С. Самоограничение и разрешение аллергического процесса / И.С. Гущин // Иммунология. – 2020. – Т. 41, № 6. – С. 557–580.

22. Давыдова, Ю.В. Преждевременные роды: влияние на состояние здоровья женщин и детей / Ю.В. Давыдова, Н.Ю. Бондаренко, А.Ю. Лиманская // Перинатология и педиатрия. – 2017. – № 1. – С. 26–32.

23. Диагностическое и прогностическое значение лимфопенических состояний у новорожденных детей с осложненным течением неонатального периода / Н.В. Ашиткова, М.В. Дегтярева, Н.Н. Володин [и др.] // Педиатрия. Журнал им. ГН Сперанского. – 2009. – Т. 87, № 1. – С. 49–54.

24. Ерпулева, Ю.В. Выбор энтеральной питательной смеси для детей раннего возраста, находящихся в критических состояниях / Ю.В. Ерпулева, А.У. Лекманов // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2007. – Т. 52, № 4. – С. 78–82.

25. Журавлева, Л.Н. Значение биомаркера пресепсина в сыворотке крови при пневмониях у недоношенных новорожденных / Л.Н. Журавлева, В.И. Новикова // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2020. – Т. 19, № 4. – С. 46–52.

26. Зайцева, М. Л. Особенности изменения основных антропометрических данных у детей, родившихся недоношенными / М. Л. Зайцева, А. Н. Узунова // Педиатрический вестник Южного Урала. – 2015. – № 1. – С. 59–66.

27. Закиров, И.И. Тромбоцитопении новорожденных / И.И. Закиров, А.И. Сафина // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6, № 6. – С. 102–107.

28. Захарова, Л. А. Пластичность нейроэндокринной и иммунной систем в раннем развитии / Л. А. Захарова // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2014. – № 5. – С. 437–447.

29. Зубарева, Н. А. Диагностика нарушений вазодилатации микрососудов кожи у больных с синдромом диабетической стопы при проведении локальной тепловой пробы / Н. А. Зубарева, С. Ю. Подтаев, А. А. Паршаков // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2015. – № 14(3). – С. 27–33.

30. Инвазивная искусственная вентиляция легких у недоношенных новорожденных в родильном зале: всегда ли она оправдана? / Ю.С. Александрович, К.В. Пшениснов, В. Хиенас, Д.В. Прометной, И.В. Александрович, И. Пилипене // Анестезиология и реаниматология. – 2018. – № 5. – С. 44–52.

31. Ирисмат, Б.У. Морфологический анализ смертности от внутриутробной инфекции плода и новорожденных в юго-западном регионе туркестанской области / Б.У. Ирисмат // Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты. – Самара, – 2019. – С. 326–327.

32. Исследование низкоамплитудных колебаний кожной температуры при проведении непрямой холодной пробы / А.В. Попов, С.Ю. Подтаев, П.Г. Фрик, А.И. Ершова, Е.А. Жукова // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2011. – Т. 10, № 1. – С. 89–94.

33. Каримова, М.Т. Анализ причин развития внутрижелудочковых кровоизлияний у глубоко недоношенных новорожденных и их исходы / М.Т. Каримова, М.М. Джураева, Г.Х. Джаборова // Вестник последипломного образования в сфере здравоохранения. – 2018. – № 1. – С. 5–9.

34. Катамнез детей, рожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела / Н. Б. Мерзлова, Ю. В. Курносков, Л. Н. Винокурова, В. И. Батурин // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 3. – С. 121–125.

35. Клиническое значение углубленной оценки кислородного статуса у недоношенных новорожденных с респираторным дистресс-синдромом / И.А. Токовая, Г.Ю. Модель, Г.А. Пенжоян, Ф.П. Тен, И.П. Сысоева, А.В. Левадная, Д.Н. Дегтярев, // Неонатология: Новости. Мнения. Обучение. – 2016. – № 4 (14). – С. 83–93.

36. Кобалава, Ж.Д. Артериальная гипертензия: ключи к диагностике и лечению / Ж.Д. Кобалава, Ю.В. Котовская, В.С. Моисеев. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 864 с.

37. Козлова, Е.М. Острая почечная недостаточность у новорожденных / Е.М. Козлова, Д.О. Иванов, Ю.В. Петренко // Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова. – 2012. – № 3. – С. 53–69.

38. Колонин, К. В. Биохимия ангиогенеза в норме и при патологии / К. В. Колонин // Наука и образование: отечественный и зарубежный опыт. – Белгород, 2019. – С. 263–281.

39. Комбинация молекулярных биомаркеров ДНК в прогнозе исхода критических состояний / В.М. Писарев, А.Г. Чумаченко, А.Д. Филев, Е.С. Ершова, С.В. Костюк, Н.Н. Вейко, А.В. Тутельян // Общая реаниматология. – 2019. – № 15(3). – С. 31–47.

40. Краснопольский, В.И. Диагностика, профилактика и лечение инфекционно-воспалительных заболеваний у новорожденных / В.И. Краснопольский, Л.С. Логутова, В.В. Малиновская. – М.: Медицина, 2011. – С. 3–9.

41. Кузьменко, Г.Н. Клиническое значение нарушений регуляции функции эндотелия в развитии респираторного дистресс-синдрома у недоношенных новорожденных / Г.Н. Кузьменко, В.В. Чемоданов, С.Б. Назаров // Педиатрия. Журнал им. ГН Сперанского. – 2008. – Т. 87, № 1. – С. 22–27.

42. Кузьмин, В.Н. Проблема внутриутробной инфекции в современном акушерстве / В.Н. Кузьмин, Л.В. Адамян // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2017. – № 3 (20). – С. 32–36.

43. Кузьмин, Е.А. Применение процесса гаусса и классификатора нейронной сети в задаче предсказания сепсиса у пациентов / Е.А. Кузьмин, В.Г. Качальский // Евразийский союз ученых. – 2020. – № 5 (74). – С. 35–38.

44. Кулаков, В.И. Новорожденные высокого риска / В.И. Кулаков, Ю.И. Барашнев. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 528 с.

45. Милованов, А.Г., Причины и дифференцированное лечение раннего невынашивания беременности (руководство для врачей) / А.Г. Милованов, О.Ф. Серова. – М.: Студия МДВ, 2011. – 214 с.

46. Михаленко, И.В. Клинико-биохимическая характеристика недоношенных новорожденных с экстремально низкой и очень низкой массой тела при рождении / И.В. Михаленко, Е.В. Михалев, С.П. Ермоленко // Педиатрическая фармакология. – 2013. – Т. 10, № 4. – С. 113–117.

47. Мусатов, О.В. Активность щелочной фосфатазы сыворотки крови в зависимости от вида операции при ранах печени, селезенки и почки в эксперименте / О.В. Мусатов, С.А. Зурнаджан, А.В. Коханов // Астраханский медицинский журнал. – 2017. – Т. 12, № 2. – С. 63–69.

48. Надеев, А.П. Патогенез перинатального поражения центральной нервной системы при внутриутробном энцефалите у плодов / А.П. Надеев, О.В. Перова, М.А. Травин // Север России: стратегии и перспективы развития. – Сургут, 2016. – С. 35–41.

49. Николаева, Г.В. Лактатемия как один из показателей циркуляторной гипоксии у детей группы риска развития ретинопатии недоношенных / Г.В. Николаева // Российская детская офтальмология. – 2017. – № 1. – С. 11–14.

50. Николенко, А.В. Изменения микроциркуляторного звена у здоровых новорожденных раннего неонатального периода и детей раннего возраста / А.В. Николенко, Г.В. Кулижников // Новая наука: Проблемы и перспективы. – 2017. – № 1–2. – С. 26–30.

51. Обзор существующих шкал оценки тяжести состояния новорожденных с критическими ВПС / Е.А. Ординарцева, А.Г. Семьянская, А.Е. Хабаров, К.В. Мумладзе // Анестезиология и реаниматология. – 2015. – Т. 60, № 5. – С. 89–92.

52. Опыт использования пресепсина (sCD14-ST) для диагностики бактериальных инфекций у новорожденных / Е.М. Козлова, Г.Л. Шунькина, Н.М. Чумак, П.П. Большаков // Ремедиум Приволжье. – 2016. – № 8 (148). – С. 19–20.

53. Опыт применения цитофлавина у глубоконедоношенных детей / И.В. Виноградова, А.Н. Белова, М.В. Краснов, Н.Н. Емельянова, Т.Г. Богданова, Д.А. Виноградов, В.С. Виноградова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – Т. 61, № 2. – С. 100–104.

54. Ордян, М.М. Симпатический овердрайв у пациентов с нарушениями углеводного обмена / М.М. Ордян // Лекарства Украины. – 2020. – № 2(238). – С. 41–48.

55. Основы молекулярной биологии клетки: пер. с англ. / Б. Альбертс, Д. Брей, К. Хопкин, [и др.] // – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – 768 с.

56. Особенности состояния здоровья детей, родившихся с очень низкой и экстремально низкой массой тела, на первом году жизни / О.М. Филькина, О.Г. Андреюк, Н.В. Долотова, Е.А. Воробьева // Детская медицина Северо-Запада. – 2011. – № 2(3). – С. 18–21.

57. Панова, Л.Д. Возможность прогнозирования развития хронического заболевания легких у глубоко недоношенных младенцев / Л.Д. Панова, П.В. Панов, Д.С. Ибрагимова // Евразийское научное объединение. – 2017. – № 1(3). – С. 80–83.

58. Перцева, В.А. Характеристика гуморального иммунитета недоношенных новорожденных детей в зависимости от особенности течения неонатального периода / В.А. Перцева, Н.И. Захарова // РМЖ. – 2011. – № 19(31). – С. 1990–1993.

59. Показатели клинического анализа крови у новорожденных, заболевших неонатальным сепсисом / Д.О. Иванов, Ю.В. Петренко, Е.А. Курзина, Н.А. Петрова // Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова. – 2012. – № 3. – С. 41–52.

60. Полиморфизм третьего интрона гена aquarogin5 и течение критических состояний, осложненных сепсисом / А.Г. Чумаченко, Е.К. Григорьев, В.М. Писарев, Н.А. Карпун // Жизнеобеспечение при критических состояниях. – М., 2019. – С. 117–118.

61. Полянина, Э.З. Показатели красной крови у детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела на фоне комплексного лечения ранней анемии недоношенных / Э.З. Полянина, М.А. Мелюченкова, И.А. Утешова // Традиционная и инновационная наука: история, современное состояние, перспективы. – Уфа, 2016. – С. 261–265.

62. Потапова, В.Е. Влияние белкового дефицита на развитие и особенности анемии у недоношенных новорожденных / В.Е. Потапова, И.М. Лысенко // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации. – Витебск, 2020. – С. 283–285.

63. Применение анализа выживаемости в здравоохранении с использованием пакета статистических программ SPSS / Е.Е. Шарашова, К.К. Холматова, М.А. Горбатова, А.М. Гржибовский // Наука и здравоохранение. – 2017. – № 5. – С. 5–28.

64. Про- и противовоспалительные медиаторы у новорожденных с перинатальной патологией / Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, И.А. Газиева, С.В. Бычкова, Е.В. Занина, Б. Т. Чарипова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2014. – Т. 59, № 2. – С. 66–70.

65. Пьер, К. Ранние маркеры воспаления в диагностике позднего неонатального сепсиса у новорожденных: исследование Nosodiag / К. Пьер // Неонатология: Новости. Мнения. Обучение. – 2019. – Т. 7, № 2 (24). – С. 92–101.

66. Рагимова, Н.Д. Комплексная оценка состояния недоношенных детей с перинатальной инфекцией / Н.Д. Рагимова // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 4. – С. 8.

67. Рагимова, Н.Д. Нейроиммунологические нарушения у недоношенных детей с перинатальными инфекциями / Н.Д. Рагимова, Г.М. Гурбанова // Педиатрическая фармакология. – 2018. – Т. 15, № 1. – С. 95–100.

68. Рыбкина, Н.Л. Недоношенные дети: фетоинфантильные потери, заболеваемость, гормональные особенности периода адаптации: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.33, 14.00.09 / Н.Л. Рыбкина – Казань, 2000. – 23 с.

69. Сафина, А.И. Острая почечная недостаточность у новорожденных / А.И. Сафина, М.А. Даминова // Практическая медицина. – 2011. – № 53. – С. 43–50.

70. 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. 10–17.

71. Сепиашвили, Р. И. Механизмы работы рецепторов, связанных с G-белком / Р. И. Сепиашвили // Аллергология и иммунология. – 2013. – Т. 14, № 2. – С. 82–86.

72. Серебрякова, Е.Н. Острые респираторные инфекции у детей, перенесших в неонатальном периоде критические состояния с разной тяжестью органных дисфункций: ретроспективное когортное исследование / Е.Н. Серебрякова, И.А. Беляева, Д.К. Волосников // Педиатрическая фармакология. – 2017. – Т. 14, № 6. – С. 469–477.

73. Серебрякова, Е.Н. Прогностическая значимость шкал SNAPPE II, CRIB II, NEOMOD в отношении риска летального исхода у новорожденных с синдромом полиорганной недостаточности / Е.Н. Серебрякова, Д.К. Волосников // Трудный пациент. – 2016. – Т. 14, № 8–9. – С. 19–22.

74. Ситдигов, Ф.Г. Вагусная регуляция развивающегося сердца / Ф.Г. Ситдигов, А.Р. Гиззатуллин, Н.И. Зиятдинова. – Казань: ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», 2016. – 234 с.

75. Современное состояние проблемы выхаживания глубоконедоношенных детей / С.А. Хмилевская, Н.И. Зрячкин, Е.С. Щербатюк, Е.И. Ермолаева, А.А.Реброва // Педиатр. – 2017. – Т. 8, № 2. – С. 81–88.

76. Содержание цитокинов в плазме крови недоношенных новорожденных детей в раннем неонатальном периоде / А.С. Жукова, Л.В. Ванько, И.В. Никитина, Е.Н. Балашова, Н.К. Матвеева, В.В. Вторушина, Д.Н. Дегтярев // Иммунология. – 2017. – Т. 38, № 3. – С. 143–147.

77. Сравнительные результаты катамнестического наблюдения детей, перенесших критические состояния неонатального периода / Е.В. Аронскинд, О.П. Ковтун, О.Т. Кабдрахманова, А.Н. Плаксина, В.Н. Шершнев, Е.С. Бахарева, О.А. Уфимцева // Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. – 2010. – № 89(1). – С. 46–50.

78. Тенденции заболеваемости и состояние здоровья детского населения Российской Федерации / А.А. Баранов, В.Ю. Альбицкий, А.А. Иванова, Р.Н. Терлецкая, С.А. Косова // Российский педиатрический журнал. – 2012. – № 6. – С. 4–9.

79. Тепаев, Р.Ф. Гипонатриемия у детей. В фокусе неврологические осложнения / Р.Ф. Тепаев // Педиатрическая фармакология. – 2011. – Т. 8, № 4. – С. 69–75.

80. Третьякова, Т.Б. Роль полиморфных вариантов гена сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGF-A в формировании неразвивающейся беременности / Т.Б. Третьякова, Н.В. Башмакова, Н.С. Демченко // Проблемы репродукции. – 2016. – № 22(6). – С. 33–37.

81. Трунова, К.А. Пресепсин как маркер сепсиса / К.А. Трунова // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. – 2018. – Т. 11, № 1. – С. 64–70.

82. Уровень цитокина MCP-1 в периферических тканях как маркер прогрессирования ишемической болезни сердца у лиц пожилого возраста / В.А. Бунин, Н.С. Линькова, Е.М. Пальцева, К.Л. Козлов // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2017. – Т. 6, № S4. – С. 14–15.

83. Усенко, Л.В. Современные возможности энергопротекции при критических состояниях / Л.В. Усенко, А.В. Царев // Медицина неотложных состояний. – 2016. – № 4 (75). – С. 72–78.

84. Устьянцева, И.М. Уровень лактата в крови как прогностический фактор летальности у пациентов с политравмой / И.М. Устьянцева, О.И. Хохлова, В.В. Агаджанян // Политравма. – 2017. – № 4. – С. 53–58.

85. Фетисова, И.Н. Полиморфизм генов фолатного цикла и болезни человека / И.Н. Фетисова // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2006. – Т. 11, № 1–2. – С. 77–82.

86. Фурман, Е.Г. Взаимосвязь тяжести состояния глубоко недоношенных новорожденных на третьи сутки жизни с клиническими и лабораторными показателями / Е.Г. Фурман, А.В. Николенко, Г.В. Кулижников // Пермский медицинский журнал. – 2019. – Т. 36, № 6. – С. 12–18.

87. Шелудько, В.С. Теоретические основы медицинской статистики (статистические методы обработки и анализа материалов научно-исследовательских работ): метод. рекомендации / В.С. Шелудько. – Пермь: Изд-во ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е. А. Вагнера» Минздрава России, 2016. – 80 с.

88. Шишко, Г.А. Параметры интенсивной терапии и структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов у недоношенных новорожденных с различными оценками по шкале Апгар / Г.А. Шишко, А.В. Сапотницкий // Репродуктивное здоровье в Беларуси. – 2009. – № 4. – С. 85–93.

89. Шкалы оценки тяжести, применимые для новорожденных детей с критическими врожденными пороками сердца / Е.А. Ординарцева,

А.Г. Семьянская, К.В. Мумладзе, А.Е. Хабаров // *Детские болезни сердца и сосудов*. – 2016. – № 13(2). – С. 100–104.

90. Шулятьева, А.А. Факторы риска развития анемии у недоношенных детей / А.А. Шулятьева, Е.А. Квапинская // *FORCIPE*. – 2020. – Т. 3. – С. 702–703.

91. A shift toward inhibitory receptors and impaired effector functions on NK cells contribute to immunosuppression during sepsis / T. Feng, X. Liao, X. Yang, C. Yang, F. Lin, Y. Guo, H. Li // *Journal of leukocyte biology*. 2020. – Vol. 107, № 1. – P. 57–67.

92. Aberrant structural and functional connectivity and neurodevelopmental impairment in preterm children / C.E. Rogers, R.E. Lean, M.D. Wheelock, C.D. Smyser // *Journal of neurodevelopmental disorders*. – 2018. – Vol. 10, № 1. – P. 1–13.

93. Ackland, G.L. Presepsin: solving a soluble (CD14) problem in sepsis? / G.L. Ackland, J.R. Prowle // *Intensive Care Med*. – 2015. – № 41(2) – P. 351–353.

94.  $\beta$ 3-Adrenoreceptor stimulation protects against myocardial infarction injury via eNOS and nNOS activation / X. Niu, L. Zhao, X. Li, Y. Xue, B. Wang, Z. Lv, Q. Zheng // *PloS one*. – 2014. – Vol. 9, № 6. – P. e98713.

95. Advances and pitfalls in using laboratory biomarkers for the diagnosis and management of sepsis / D. Rogic, G.F. Juros, J. Petrik, A.L. Vrancic // *EJIFCC*. – 2017. – Vol. 28, № 2. – P. 114.

96. Altered miRNAs expression profiles and modulation of immune response genes and proteins during neonatal sepsis / J. Chen, S. Jiang, Y. Cao, Y. Yang // *Journal of clinical immunology*. – 2014. – Vol. 34, № 3. – P. 340–348.

97. An update on the use of C-reactive protein in early-onset neonatal sepsis: current insights and new tasks / N. Hofer, E. Zacharias, W. Müller, B. Resch // *Neonatology*. – 2012. – № 102(1). – P. 25–36.

98. 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, C.H. Kok, G. Zhang, D.A. Doherty, A.J. Currie // *PloS one*. – 2015. – Vol. 10, № 2. – P. e0117038.

99. Apgar Scores at 10 Minutes and Outcomes in Term and Late Preterm Neonates with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy in the Cooling Era / M. Ayrapetyan, K. Talekar, K. Schwabenbauer, D. Carola, K. Solarin, D. McElwee, S. Adeniyi-Jones, J. Greenspan, Z. H. Aghai // *Am J Perinatol.* – 2019. – № 36(5). – P. 545–554.

100. Arunachalam, A.R. Biomarkers in early onset neonatal sepsis: An update / A.R. Arunachalam, M Pammi // *Ann. Clin. Med. Microbiol.* – 2015. – Vol. 1, № 2. – P. 1007.

101. Association between Beta1- Adrenergic Receptor Polymorphism and Risk of ICD Shock in Heart Failure Patients / L. Zanolla, P. Guarise, L. Tomasi, C. Vassanelli, N. Cicorella [et al.] // *Pacing and Clinical Electrophysiology.* – 2016. – № 39(6). – P. 557–564.

102. Associations between interleukin-1 gene polymorphisms and sepsis risk: a meta-analysis / A.Q. Zhang, W. Pan, J.W. Gao, C.L. Yue, L. Zeng, W. Gu, J.X. Jiang // *BMC medical genetics.* – 2014. – Vol. 15, № 1. – P. 1–14.

103. Babaei, H. The Effect of Surfactant Accompanied by Ventolin on the Respiratory Distress Syndrome in Premature Newborns / H. Babaei, A. Talebghagh // *A Clinical Trial Study. International Journal of Pediatrics.* – 2019. – № 7(8). – P. 9803–9815.

104. Ballabh, P. Pathogenesis and prevention of intraventricular hemorrhage / P. Ballabh // *Clinics in perinatology.* – 2014. – Vol. 41, № 1 – P. 47–67.

105. Bhandari, V. Effective biomarkers for diagnosis of neonatal sepsis / V. Bhandari // *J. Pediatr. Infect. Dis. Soc.* – 2014. – № 3(3). – P. 234–245.

106. Cetinkaya, M. A new scoring system for evaluation of multiple organ dysfunction syndrome in premature infants / M. Cetinkaya, N. Koksall, H. Ozkan // *Am.J Critical Care.* – 2012. – Vol. 21, № 5. – P. 328–337.

107. Chen, X. Maternal biomarkers of endothelial dysfunction and preterm delivery / X. Chen, T.O. Scholl // *PloS one.* – 2014. – Vol. 9, № 1. – P. e 85716.

108. Cho, S.Y. Biomarkers of Sepsis / S.Y. Cho, J.H. Choi // *Infect Chemother.* – 2014. – № 46(1). – P. 1–12.

109. Comparative assessment of cytokine pattern in early and late onset of neonatal sepsis / K.S. Khaertynov, S.V. Boichuk, S.F. Khaiboullina, V.A. Anokhin, A.A. Andreeva, V.C. Lombardi, A.A. Rizvanov // *Journal of immunology research*. – 2017. – Vol. 2017. – P. 1–8.

110. Comparison of diagnostic accuracy in sepsis between presepsin, procalcitonin, and C-reactive protein: a systematic review and meta-analysis / C.C. Wu, H.M. Lan, S.T. Han, C.H. Chaou [et al.] // *Annals of intensive care*. – 2017. – Vol. 7. № 1. – P. 1–16.

111. Cord blood acute phase reactants predict early onset neonatal sepsis in preterm infants / L.B. Mithal, H.L. Palac, R. Yogev, L.M. Ernst, K.K. Mestan // *PLOS one*. – 2017. – Vol. 12, № 1. – P. e0168677.

112. Correlation between Neonatal Sepsis and Red Blood Cell Distribution Width (RDW) / M.S. Salim, A.M. Abdelmuktader, A. El-Hamid, R. Galal, M.M. Abbas // *Fayoum University Medical Journal*. – 2019. – № 2(1). – P. 71–78.

113. Correlation of lactate/albumin ratio level to organ failure and mortality in severe sepsis and septic shock / B. Wang, G. Chen, Y. Cao, J. Xue, J. Li, Y. Wu // *Journal of critical care*. – 2015. – Vol. 30, № 2. – P. 271–275.

114. Critically ill newborns with multiple organ dysfunction: assessment by NEOMOD score in a tertiary NICU / J. Janota, J. Simak, Z. Stranak, , T. Matthews, T. Clarke, D. Corcoran // *Irish journal of medical science*. – 2008. – № 177(1). – P. 11–17.

115. Development and validation of a nomogram for predicting late-onset sepsis in preterm infants on the basis of thyroid function and other risk factors: Mixed retrospective and prospective cohort study / Y. Huang, X. Yu, W. Li, Y. Li, J. Yang, Z. Hu, Y. Chen // *Journal of Advanced Research*. – 2020. – Vol. 24. – P. 43–51.

116. Dhas, B.B. Expression levels of candidate circulating microRNAs in early-onset neonatal sepsis compared with healthy newborns / B.B. Dhas, V.R. Dirisala, B.V. Bhat // *Genomics Insights*. – 2018. – Vol. 11, P. 1178631018797079.

117. Diagnosis and Management of Early-Onset Neonatal Sepsis (Eos) Among High-Risk Neonates in Kisii Teaching and Referral Hospital and Homabay County

Referral Hospital, Western Kenya / J.M. Naulikha, O.T. Orindi, A.S. Amollo, C.O. Obonyo // *Clin Med Case Rep.* – 2018. – № 2. – P. 1.

118. Diagnostic accuracy of interleukin-6 for early-onset sepsis in preterm neonates / C.U. Ebenebe, F. Hesse, M.E. Blohm, R. Jung, S. Kunzmann, D. Singer // *The Journal of Maternal-Fetal. Neonatal Medicine.* – 2021. – Vol. 34, №. 2. – P. 253–258.

119. Dong, Y. Late-onset neonatal sepsis: recent developments / Y. Dong, C. P. Speer // *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition.* – 2015. – № 100(3). – F257–F263.

120. Early Onset Neonatal Sepsis; Diagnostic Value of Some Laboratory Tests / R.T.S. Licona, D.G.E. Fajardo, G.R.A. Ferrera, A. Mazariegos // *Int. J. Med. Surg. Sci.* – 2017. – № 4(1). – P. 1109–1114.

121. Early transcriptional response of human ovarian and fallopian tube surface epithelial cells to norepinephrine / A. Gjyshi, S. Dash, L. Cen, C.H. Cheng, C. Zhang, S.J. Yoder, A.N. Monteiro // *Scientific reports.* – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 1–11.

122. Effective factors of INSURE method failure in treatment of respiratory distress syndrome in preterm infants / N. Danaie, M. Seddigh, R. Ghorbani, S. Nooripour // *International Journal of Pediatrics.* – 2017. – Vol. 5, № 11. – P. 6069–6076.

123. Endothelial adhesion molecules and multiple organ failure in patients with severe sepsis / B. Amalakuhan, S.A. Habib, M. Mangat, L.F. Reyes, A.H. Rodriguez, C. A. Hinojosa, S. M. Levine // *Cytokine.* – 2016. – № 88. – P. 267–273.

124. Endothelial cells of different organs exhibit heterogeneity in von Willebrand factor expression in response to hypoxia / A. Mojiri, P. Alavi, M.A.L. Carrillo, M. Nakhaei-Nejad [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2019. – № 282. – P. 1–10.

125. Endothelial dysfunction and developmental outcomes of very low birth weight newborns with hypoxic encephalopathy / S.A. Huseynova, N.F. Panakhova, A.S. Hajiyeva, P.A. Orujova, S.N. Mukhtarova, G.T. Agayeva // *The Journal of the Pakistan Medical Association.* – 2017. – № 67(12). – P. 1857–1863.

126. Epigenetic programming of monocyte-to-macrophage differentiation and trained innate immunity / S. Saeed, J. Quintin, H.H. Kerstens, N.A. Rao, A. Aghajani-refah, F. Matarese, N. Sharifi // *Science*. – 2014. – Vol. 345, № 6204. – P. 1251086-1–1251086-11.
127. Fernandez, D.N. Morbilidad y mortalidad por sepsis neonatal precoz / D.N. Fernandez; R.J.D. de Estrada, C.F. Diaz // *Revista Cubana de Pediatría*. – 2010. – Vol. 82, № 2.
128. Fetal leucocyte count in rhesus disease / N. P. Davies, A. G. Buggins, R. J. Snijders, P. N. Noble, D. M. Layton, K. H. Nicolaides // *Archives of disease in childhood*. – 1992. – Vol. 67(4). – P. 404–406.
129. Genetic contributions to the development of complications in preterm newborns / C. Poggi, B. Giusti, E. Gozzini, A. Sereni, I. Romagnuolo, A. Kura, C. Dani // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10, № 7. – P. e0131741.
130. Genetic Polymorphisms rs699947, rs1570360, and rs3025039 on the VEGF Gene Are Correlated with Extracranial Internal Carotid Artery Stenosis and Ischemic Stroke. *Annals of Clinical Laboratory Science* / B.K. Yadav, R. Yadav, H. Chang, K. Choi [et al.] // *Annals of Clinical Laboratory Science*. – 2017. – № 47(2). – P. 144–155.
131. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000 / L. Liu, H. L. Johnson, S. Cousens, J. Perin, S. Scott, J. E. Lawn, C. Mathers // *The lancet*. – 2012. – № 379 (9832). – P. 2151–2161.
132. Greenberg, D.A. Vascular endothelial growth factors (VEGFs) and stroke / D.A. Greenberg, K. Jin // *Cellular and molecular life sciences*. – 2013. – № 70(10). – P. 1753–1761.
133. Harigopal, S. *Neurology: Neonatology Questions and Controversies* / S. Harigopal // *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. – Elsevier. – 2013. – Vol. 18, – № 4. – P. 234.
134. Hierarchical maturation of innate immune defences in very preterm neonates / A.A. Sharma, R. Jen, R. Brant, M. Ladd, Q. Huang, A. Skoll, P.M. Lavoie // *Neonatology*. – 2014. – № 106(1). – P. 1–9.

135. Hooven, T.A. Pneumonia / T.A. Hooven, R.A. Polin // *Semin Fetal Neonatal Med.* – 2017. – № 22(4). – P. 206–213.
136. Hotchkiss, R.S. The pathophysiology and treatment of sepsis / R.S. Hotchkiss, I.E. Karl // *New England Journal of Medicine.* – 2003. – № 348(2). – P. 138–150.
137. Hunziker, S. Red cell distribution width and mortality in newly hospitalized patients / S. Hunziker, J. Stevens, M.D. Howell // *Am J Med.* – 2012. – № 125. – P. 283–291.
138. Identification of generic and pathogen-specific cord blood monocyte transcriptomes reveals a largely conserved response in preterm and term newborn infants / E. De Jong, D.G. Hancock, J. Hibbert, C. Wells, P. Richmond, K. Simmer, A.J. Currie // *Journal of Molecular Medicine.* – 2018. – № 96(2). – P. 147–157.
139. Immature to total neutrophil ratio as an early indicator of early neonatal sepsis / E. Saboohi, F. Saeed, R.N. Khan, M.A. Khan // *Pakistan journal of medical sciences.* – 2019. – Vol. 35, № 1. – P. 241.
140. Impaired microvascular perfusion improves with increased incubator temperature in preterm infants / O. Genzel-Boroviczeny, T. Seidl, E. Rieger-Fackeldey, J. Abicht, F. Christ // *Pediatric research.* – 2007. – Vol. 61, № 2. – P. 239–242.
141. Jing, R. Role and mechanism of mitophagy in ventilator-induced lung injury in rats / R. Jing, L. Pan // *Chin Crit Care Med.* – 2017. – № 29. P. 6–10.
142. Kan, B. An immunological perspective on neonatal sepsis / B. Kan, H. R. Razzaghian, P. M. Lavoie // *Trends in molecular medicine.* – 2016. – № 22(4). – P. 290–302.
143. Kandasamy, Y. The association between systemic vascular endothelial growth factor and retinopathy of prematurity in premature infants: a systematic review / Y. Kandasamy, L. Hartley, R. Smith // *British Journal of Ophthalmology.* – 2017. – № 101(1). – P. 21–24.
144. Matern, J. Mid-and long-term outcome of extremely infants: an analysis of prognostic factors / J. Matern // *Fetal Neonatal Med.* – 2007. – № 6. – P. 468–471.

145. Melamed, N. Fetal gender and pregnancy outcome / N. Melamed, Y. Yogev, M. Glezerman // *The Journal of Maternal-Fetal. Neonatal Medicine.* – 2010. – № 23(4). – P. 338–344.
146. MicroRNA-155 upregulation mediates sepsis-associated cardiovascular dysfunction / F. Vasques-Novoa, C. Quina-Rodrigues, R. Cerqueira, L. Mendonca, P. Castro-Chaves, A.P. Lourenco, R. Roncon-Albuquerque // *Circulation.* – 2012. – Vol. 126. – P. A14713.
147. Minimum duration of antibiotic treatment based on blood culture in rule out neonatal sepsis / N.U.R. Durrani, N. Rochow, J. Alghamdi, A. Pelc [et al.] // *The Pediatric infectious disease journal.* – 2019. – № 38 (5). – P. 528–532.
148. Morbidity and mortality of infants with very low birth weight in Japan: center variation / S. Kusuda, M. Fujimura, I. Sakuma // *Pediatrics.* – 2006. – № 118. – P. 1130–1138.
149. Multiple gene-to-gene interactions in children with sepsis: a combination of five gene variants predicts outcome of life-threatening sepsis / P. Jabandziev, M. Smerek, J. Michalek, M. Fedora, L. Kosinova, J.A. Hubacek // *Critical care.* – 2014. – Vol. 18, № 1. – P. 1–9.
150. Nair, A. The reliability of surgical Apgar score in predicting immediate and late postoperative morbidity and mortality: a narrative review / A. Nair, A. Bharuka, B.K. Rayani // *Rambam Maimonides medical journal.* – 2018. – Vol. 9, № 1. – P. e0004.
151. Nakhla T. The time to death for extremely low birth weight infants in the neonatal intensive care Unit / T. Nakhla, S. Imaizumi, J. Saslow // *The Internet Journal of Pediatrics and Neonatology.* – 2007. – Vol. 6, № 2.
152. Neonatal sepsis and inflammatory mediators / J. Reis Machado, D.F. Soave, M.V. da Silva, L.B. de Menezes, R.M. Etchebehere, M.L.G.D.R. Monteiro, M.R.N. Celes // *Mediators of inflammation.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 10.
153. Neurological consequences of systemic inflammation in the premature neonate / A. Patra, H. Huang, J.A. Bauer, P.J. Giannone // *Neural regeneration research.* – 2017. – Vol. 12, № 6. – P. 890.

154. New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers / K. Reinhart, M. Bauer, N. C. Riedemann, C. S. Hartog // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2012. – № 25(4). – P. 609–634.

155. Newborn screening of genetic mutations in common deafness genes with bloodspot-based gene chip array / X. He, X. Li, Y. Guo, Y. Zhao [et al.] // *American journal of audiology*. – 2018. – № 27(1). – P. 57–66.

156. Oguz, S.S. C- reactive protein and interleukin- 6 responses for differentiating fungal and bacterial aetiology in late- onset neonatal sepsis / S.S. Oguz, E. Sipahi, U. Dilmen // *Mycoses*. – 2011. – № 54 (3). – P. 212–216.

157. Park, S.A. Factors influencing ventilator-associated pneumonia in cancer patients / S.A. Park, S.S. Cho, G.J. Kwak // *Asian Pac J Cancer Prev*. – 2014. – № 15. – P. 5787–5791.

158. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock / D. De Backer, D. Orbeago Cortes, K. Donadello, J.L. Vincent // *Virulence*. – 2014. – Vol. 5, № 1. – P. 73–79.

159. Podtaev, S. Wavelet-based Correlations of Skin Temperature and Blood Flow Oscillations Cardiovasc / S. Podtaev, M. Morozov, P. Frick // *Cardiovascular Engineering*. – 2008. – Vol. 8, № 3. – P.185–189.

160. Polymorphisms in the beta2-adrenoreceptor gene are associated with decreased airway responsiveness / C.E. Ramsay, C.M. Hayden, K.J. Tiller, P.R. Burton, J. Goldblatt, P.N. Lesouef // *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. – 1999. – Vol. 29, № 9. – P. 1195–1203.

161. Polyuria and impaired renal blood flow after asphyxia in preterm fetal sheep / J.S. Quaedackers, V. Roelfsema, C.J. Hunter, E. Heineman, A.J. Gunn, L. Bennet // *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. – 2004. – № 286(3). – R576–R583.

162. Pre-and Perinatal Characteristics Associated with Apgar Scores in a Review and in a New Study of Dutch Twins / V.V. Odintsova, C.V. Dolan, C.E. Van Beijsterveldt, E.L. De Zeeuw [et al.] // *Twin Research and Human Genetics*. – 2019. – № 22(3). – P. 164–176.

163. Predicting mortality in extremely low birth weight infants: Comparison between gestational age, birth weight, Apgar score, CRIB II score, initial and lowest serum albumin levels / J.H. Park, Y.S. Chang, S.Y. Ahn, S.I. Sung, W.S. Park // *PloS one*. – 2018. – Vol. 13, № 2. – P. e0192232.

164. Procalcitonin: a reliable marker for the diagnosis of neonatal sepsis / M. Adib, Z. Bakhshiani, F. Navaei, F.S. Fosoul, S. Fouladi, H. Kazemzadeh // *Iranian journal of basic medical sciences*. – 2012. – Vol. 15, № 2 – P. 777.

165. Procalcitonin-guided decision making for duration of antibiotic therapy in neonates with suspected early-onset sepsis: a multicentre, randomised controlled trial (NeoPIIns) / M. Stocker, W. Van Herk, S. El Helou, S. Dutta, M. S. Fontana, F.A. Schuerman, R. Moonen // *The Lancet*. – 2017. – № 390(10097). – P. 871–881.

166. Profound lack of interleukin (IL)-12/IL-23p40 in neonates born early in gestation is associated with an increased risk of sepsis / P.M. Lavoie, Q. Huang, E. Jolette, M. Whalen, A.M. Nuyt, F. Audibert, T.R. Kollmann // *The Journal of infectious diseases*. – 2010. – Vol. 202, № 11. – P. 1754–1763.

167. Quantifying the correlation between photoplethysmography and laser Doppler flowmetry microvascular low-frequency oscillations / I. Mizeva, C. Di Maria, P. Frick, S. Podtaev, J. Allen // *Journal of biomedical optics*. – 2015. – Vol. 20, № 3. – P. 037007.

168. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system / C.L. Maynard, C.O. Elson, R.D. Hatton, C.T. Weaver // *Nature*. – 2012. – Vol. 489, № 7415. – P. 231–241.

169. Red blood cell transfusion and clinical outcomes in extremely low birth weight preterm infants / Y.C. Wang, O.W. Chan, M.C. Chiang, P.H. Yang // *Pediatrics & Neonatology*. – 2017. – Vol. 58, № 3. – P. 216–222.

170. Red cell distribution width and its association with mortality in neonatal sepsis / S. L. Martin, S. Desai, R. Nanavati, R. B. Colah, K. Ghosh, M. B. Mukherjee // *The Journal of Maternal-Fetal. Neonatal Medicine*. – 2019. – № 32(12). – P. 1925–1930.

171. Responsiveness of human monocytes to the commensal bacterium *Staphylococcus epidermidis* develops late in gestation / T. Strunk, A. Prosser, O. Levy, V. Philbin, K. Simmer, D. Doherty, A. Currie // *Pediatric research*. – 2012. – № 72(1). – P. 10–18.
172. Role of oxidative stress in neonatal respiratory distress syndrome / L. Marseglia, G. D'Angelo, R. Granese, R. Falsaperla // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2019. – № 142. – P. 132–137.
173. Sepsis-associated electroencephalographic changes in extremely low gestational age neonates / J.B. Helderma, C.D. Welch, X. Leng, T.M. O'Shea // *Early human development*. – 2010. – № 86(8). – P. 509–513.
174. Serum miR-146a and miR-223 as potential new biomarkers for sepsis / J.F. Wang, M. L. Yu, G. Yu, J.J. Bian [et al.] // *Biochembiophys Res Commun*. – 2010. – № 394. – P. 184–188.
175. Serum thyroid hormones levels are significantly decreased in septic neonates with poor outcome / A. Kurt, A. D. Aygun, I. Sengul, Y. Sen, A.C. Kurt, B. Ustundag // *Journal of endocrinological investigation*. – 2011. – Vol. 34, № 4. – P. e92–e96.
176. Shahfarhat, A. Physical examination and treatments in neonatal disease / A. Shahfarhat, R. Saeidi, A. Mohammadzade // *Iran: Mashhad University of Medical Sciences*. – 2006. – № 2(1). – P. 201–224.
177. Shusterman, V. Spontaneous skin temperature oscillations in normal human subjects / V. Shusterman, K.P. Anderson, O. Barnea // *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. – 1997. – Vol. 273, № 3. – P. R1173–R1181.
178. Simon, L.V. Apgar Score / L.V. Simon, M.F. Hashmi, B.N. Bragg // *Stat Pearls*. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing. – Florida, 2017.
179. Sinclair, J.C. Servo-control for maintaining abdominal skin temperature at 36C in low birth weight infants / J.C. Sinclair // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2002. – № 1. – P. CD001074.

180. Skin blood flow changes, measured by laser Doppler flowmetry, in the first week after birth / H.E. Suichies, C. Brouwer, J.G. Aarnoudse, H.W. Jentink, F.F.M. De Mul, J. Greve // *Early human development*. – 1990. – Vol. 23, № 1. – P. 1–8.

181. Stoelhorst, G.M. Changes in neonatology: comparison of two cohorts of very preterm infants (gestational age < 32 weeks): the Project On Preterm and Small for Gestational Age Infants 1983 and the Leiden Follow-Up Project on Prematurity 1996-1997 / G.M. Stoelhorst // *Pediatrics*. – 2005. – № 115(2). – P. 396–405.

182. Survival rate and prevalence of bronchopulmonary dysplasia in extremely low birth weight infants / G. Latini, C. De Felice, R. Giannuzzi, A. Del Vecchio // *Early human development*. – 2013. – № 8(1). – P. 69–73.

183. The apgar score and infant mortality / F. Li, T. Wu, X. Lei, H. Zhang, M. Mao, J. Zhang // *PloS one*. – 2013. – Vol. 8, № 7. – P. e69072.

184. The association between vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and stroke: A PRISMA-compliant meta-analysis / B. Xu, R. Zhan, H. Mai, Z. Wu, P. Zhu, Y. Liang, Y. Zhang // *Medicine*. – 2019. – Vol. 98, № 11. – P. e14696.

185. The barriers to the prevention of ventilator-associated pneumonia from the perspective of critical care nurses: A qualitative descriptive study / V. Atashi, H. Yousefi, H. Mahjobipoor, A. Yazdannik // *Journal of clinical nursing*. – 2018. – № 27. – P. 1161–1170.

186. The effects of maternal preeclampsia on inflammatory cytokines and clinical outcomes in premature infants / S.C. Cakir, B.A. Dorum, N. Koksall, H. Ozkan // *Pakistan Journal of Medical Sciences*. – 2020. – Vol. 36, № 2. – P. 26.

187. Use of presepsin and procalcitonin for prediction of SeptiFACT results in critically ill patients / D. Mihajlovic, S. Brkic, A. Uvelin, B. Draskovic, V. Vrsajkov // *Journal of critical care*. – 2017. – № 40. – P. 197–201.

188. Vascular endothelial growth factor gene variability is associated with increased risk for AD / R. Del Bo, M. Scarlato, S. Ghezzi, F. Martinelli Boneschi, C. Fenoglio, S. Galbiati, G.P. Comi // *Annals of neurology*. – 2005. – Vol. 57, № 3. – P. 373–380.

189. Ventilator-associated pneumonia in premature newborns admitted to the intensive care unit / K. Jiang, C. Wang, C. Sun, H. Zhong, S. Yan, S. Zhou // *Int J Clin Exp Med.* – 2018. – Vol. 11, № 5. – P. 4695–4701.

190. Wavelet-analysis of skin temperature oscillations during local heating for revealing endothelial dysfunction / S. Podtaev, R. Stepanov, E. Smirnova, E. Loran // *Microvascular research.* – 2015. – Vol. 97. – P. 109–114.

191. Wolf, T. Procalcitonin as a biomarker for critically ill patients with sepsis: Effects of vitamin D supplementation / T. Wolf, S.J. Wimalawansa, M.S. Razzaque // *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology.* – 2019. – Vol. 193. – P. 105428.

192. Wu, Y. W. Chorioamnionitis as a risk factor for cerebral palsy: a meta-analysis / Y. W. Wu, Jr J. M. Colford // *Jama.* – 2000. – № 284(11). – P. 1417–1424.

193. Zhao J., Bai Y., Jin L., Weng Y., Wang Y., Wu H., Wang S. A functional variant in the 3'-UTR of VEGF predicts the 90-day outcome of ischemic stroke in Chinese patients / J. Zhao, Y. Bai, L. Jin, Y. Weng, Y. Wang, H. Wu, S. Wang // *PloS one.* – 2017. – Vol. 12, № 2. – P. e0172709.

## Расчеты исследований ROC анализа и метода Каплан-Мейера по уровню ИЛ-8 в 1 сутки жизни

Среднее и медианное время

Среднее	SE	95% CI для среднего	Медиана	95% CI для медианы
14,500	4,690	от 5,307 до 23,693	7,000	от 5,000 до 20,000

Сутки жизни	Пропорция выживаемости	Среднеквадратическая ошибка
0	-	-
4	0,875	0,117
5	0,750	0,153
6	0,625	0,171
7	0,500	0,177
14	0,375	0,171
16	0,250	0,153
20	0,125	0,117
44	0,000	0,000

Площадь под кривой ROC (AUC)

Площадь под кривой ROC (AUC)	0,843
Среднеквадратическая ошибка <sup>a</sup>	0,0699
Интервал доверия 95% <sup>b</sup>	от 0,691 до 0,939
z-статистика	4,903
Уровень значимости P (площадь = 0,5)	<0,0001

<sup>a</sup> Делонг и др. 1988

<sup>b</sup> Биномиальный точный

Индекс Юдена

Индекс Юдена J	0,6815
Связанный критерий	>124,3
Чувствительность	87,50
Специфичность	80,65

Значения критерия и координаты кривой ROC

Критерий	Чувствительность	95% CI	Специфичность	95% CI	+LR	95% CI	-LR	95% CI
≥0	100,00	63,1 - 100,0	0,00	0,0 - 11,2	1,00	1,0 - 1,0		

>0	100,00	63,1 100,0	-	16,13	5,5 - 33,7	1,19	1,0 - 1,4	0,00	
>13,2	100,00	63,1 100,0	-	19,35	7,5 - 37,5	1,24	1,0 - 1,5	0,00	
>16,3	100,00	63,1 100,0	-	22,58	9,6 - 41,1	1,29	1,1 - 1,6	0,00	
>27,7	100,00	63,1 100,0	-	25,81	11,9 44,6	1,35	1,1 - 1,7	0,00	
>31,7	100,00	63,1 100,0	-	29,03	14,2 48,0	1,41	1,1 - 1,8	0,00	
>32,8	100,00	63,1 100,0	-	32,26	16,7 51,4	1,48	1,2 - 1,9	0,00	
>43,6	100,00	63,1 100,0	-	35,48	19,2 54,6	1,55	1,2 - 2,0	0,00	
>45,2	100,00	63,1 100,0	-	38,71	21,8 57,8	1,63	1,2 - 2,2	0,00	
>47,3	100,00	63,1 100,0	-	41,94	24,5 60,9	1,72	1,3 - 2,3	0,00	
>54,9	100,00	63,1 100,0	-	48,39	30,2 66,9	1,94	1,4 - 2,7	0,00	
>55	100,00	63,1 100,0	-	51,61	33,1 69,8	2,07	1,4 - 3,0	0,00	
>60,1	87,50	47,3 99,7	-	51,61	33,1 69,8	1,81	1,2 - 2,8	0,24	0,04 - 1,6
>68,2	87,50	47,3 99,7	-	54,84	36,0 72,7	1,94	1,2 - 3,1	0,23	0,04 - 1,5
>75,8	87,50	47,3 99,7	-	58,06	39,1 75,5	2,09	1,3 - 3,4	0,22	0,03 - 1,4
>84,9	87,50	47,3 99,7	-	61,29	42,2 78,2	2,26	1,4 - 3,8	0,20	0,03 - 1,3
>93,3	87,50	47,3 99,7	-	64,52	45,4 80,8	2,47	1,4 - 4,2	0,19	0,03 - 1,2
>99,1	87,50	47,3 99,7	-	67,74	48,6 83,3	2,71	1,5 - 4,8	0,18	0,03 - 1,2
>102,6	87,50	47,3 99,7	-	70,97	52,0 85,8	3,01	1,6 - 5,5	0,18	0,03 - 1,1
>104,5	87,50	47,3 99,7	-	74,19	55,4 88,1	3,39	1,8 - 6,5	0,17	0,03 - 1,1
>122,8	87,50	47,3 99,7	-	77,42	58,9 90,4	3,87	1,9 - 7,8	0,16	0,03 - 1,0
>124,3	87,50	47,3 99,7	-	80,65	62,5 92,5	4,52	2,1 - 9,7	0,16	0,02 - 1,0
>126,4	75,00	34,9 96,8	-	80,65	62,5 92,5	3,87	1,7 - 8,8	0,31	0,09 - 1,0
>141,3	75,00	34,9 96,8	-	83,87	66,3 94,5	4,65	1,9 - 11,4	0,30	0,09 - 1,0
>177,7	62,50	24,5 91,5	-	83,87	66,3 94,5	3,88	1,5 - 10,2	0,45	0,2 - 1,1
>184,7	62,50	24,5 91,5	-	87,10	70,2 96,4	4,84	1,7 - 14,0	0,43	0,2 - 1,1
>190,3	62,50	24,5 91,5	-	90,32	74,2 98,0	6,46	1,9 - 21,5	0,42	0,2 - 1,0
>191,6	50,00	15,7 84,3	-	90,32	74,2 98,0	5,17	1,4 - 18,6	0,55	0,3 - 1,1
>213	37,50	8,5 75,5	-	90,32	74,2 98,0	3,87	1,0 - 15,7	0,69	0,4 - 1,2
>231,1	25,00	3,2 65,1	-	90,32	74,2 98,0	2,58	0,5 - 12,9	0,83	0,5 - 1,3
>235,6	12,50	0,3 52,7	-	90,32	74,2 98,0	1,29	0,2 - 10,8	0,97	0,7 - 1,3
>294,6	12,50	0,3	-	93,55	78,6	1,94	0,2 - 18,8	0,94	0,7 - 1,2

		52,7		99,2					
>310,1	12,50	0,3 52,7	- 96,77	83,3 99,9	- 3,88	0,3 - 55,4	0,90	0,7 - 1,2	
>315,3	0,00	0,0 36,9	- 96,77	83,3 99,9	- 0,00		1,03	1,0 - 1,1	
>430,4	0,00	0,0 36,9	- 100,00	88,8 100,0	-		1,00	1,0 - 1,0	

## Сводка случаев

Коэффициент	Число событий <sup>a</sup>		Число цензурированных <sup>b</sup>		Общий размер выборки
	N	%	N	%	
1	1	4,17	23	95,83	24
2	7	46,67	8	53,33	15
Общий	8	20,51	31	79,49	39

<sup>a</sup> Исход – летальный<sup>b</sup> Исход – выжившие

## Среднее и медианное время

Коэффициент	Среднее	SE	95% CI для среднего	Медиана	95% CI для медианы
1	14,000	0,000	от 14,000 до 14,000	14,000	от - до -
2	9,143	1,622	от 5,964 до 12,321	7,000	от 5,000 до 20,000
Общий	14,500	4,690	от 5,307 до 23,693	7,000	от 5,000 до 20,000

## Таблица дожития

	Коэффициент				Общий	
	1		2		Пропорция выживаемости	Среднеквадратическая ошибка
Выживаемость выживаемости	Пропорция выживаемости	Среднеквадратическая ошибка	Пропорция выживаемости	Среднеквадратическая ошибка	Пропорция выживаемости	Среднеквадратическая ошибка
0	-	-	-	-	-	-
4	-	-	0,857	0,132	0,875	0,117
5	-	-	0,714	0,171	0,750	0,153
6	-	-	0,571	0,187	0,625	0,171
7	-	-	0,429	0,187	0,500	0,177
14	0,000	0,000	-	-	0,375	0,171
16	-	-	0,286	0,171	0,250	0,153
20	-	-	0,143	0,132	0,125	0,117
44	-	-	0,000	0,000	0,000	0,000
Конечная точка: Наблюдаемое n	1,0		7,0			
Ожидаемое n	0,9		7,1			
Наблюдаемая/ожидаемая	1,1306		0,9838			

## Сравнение кривых выживаемости (логранговый критерий)

Chi-квadrat	0,01857
DF	1
Значимость	P = 0,8916

Отношения рисков <sup>a</sup> с 95% доверительным интервалом

Коэффициент	1	2
1	-	0,8702 от 0,09548 до 7,9303
2	1,1492 от 0,1261 до 10,4732	-

<sup>a</sup> Столбец/строка

**Расчеты исследований ROC анализа и метода Каплан-Мейера  
по уровню VEGF в 1, 3 и 7 сутки жизни Анализ кривой ROC значений VEGF  
в 1 сутки жизни**

**Анализ кривой ROC**

Переменная	VEGF1
Классификационная переменная	Исход
Размер выборки	41
Положительная группа a	8 (19,51%)
Отрицательная группа b	33 (80,49%)

<sup>a</sup> Исход = 1

<sup>b</sup> Исход = 0

**Площадь под кривой ROC (AUC)**

Площадь под кривой ROC (AUC)	0,589
Среднеквадратическая ошибка <sup>a</sup>	0,127
Интервал доверия 95% <sup>b</sup>	от 0,425 до 0,740
z-статистика	0,703
Уровень значимости P (площадь = 0,5)	0,4819

<sup>a</sup> Делонг и др. 1988

<sup>b</sup> Биномиальный точный

**Индекс Юдена**

Индекс Юдена J	0,2614
Связанный критерий	>858,5
Чувствительность	62,50
Специфичность	63,64

**Значения критерия и координаты кривой ROC**

Критерий	Чувствительность	95% CI	Специфичность	95% CI	+LR	95% CI	-LR	95% CI
≥0	100,00	63,1 - 100,0	0,00	0,0 - 10,6	1,00	1,0 - 1,0		
>0	87,50	47,3 - 99,7	21,21	9,0 - 38,9	1,11	0,8 - 1,5	0,59	0,08 - 4,1
>32,1	87,50	47,3 - 99,7	24,24	11,1 - 42,3	1,15	0,8 - 1,6	0,52	0,07 - 3,6
>40,3	75,00	34,9 - 96,8	24,24	11,1 - 42,3	0,99	0,6 - 1,5	1,03	0,3 - 4,0
>55,6	75,00	34,9 - 96,8	27,27	13,3 - 45,5	1,03	0,7 - 1,6	0,92	0,2 - 3,4
>60,2	62,50	24,5 - 91,5	27,27	13,3 - 45,5	0,86	0,5 - 1,5	1,37	0,5 - 3,9
>106,7	62,50	24,5 - 91,5	30,30	15,6 - 48,7	0,90	0,5 - 1,6	1,24	0,4 - 3,5
>131,3	62,50	24,5 - 91,5	33,33	18,0 - 51,8	0,94	0,5 - 1,7	1,12	0,4 - 3,1
>131,8	62,50	24,5 - 91,5	36,36	20,4 - 54,9	0,98	0,5 - 1,8	1,03	0,4 - 2,8



0	-	-	0,957	0,0425	0,976	0,0241
32,1	-	-	-	-	-	-
40,3	-	-	0,888	0,0768	0,945	0,0380
55,6	-	-	-	-	-	-
60,2	-	-	0,814	0,0999	0,914	0,0481
106,7	-	-	-	-	-	-
131,3	-	-	-	-	-	-
131,8	-	-	-	-	-	-
217,3	-	-	-	-	-	-
232,5	-	-	-	-	-	-
276,7	-	-	-	-	-	-
365,8	-	-	-	-	-	-
452,9	-	-	-	-	-	-
819,8	-	-	-	-	-	-
820,9	-	-	-	-	-	-
830,9	-	-	-	-	-	-
858,5	-	-	-	-	-	-
867,4	0,941	0,0571	-	-	0,860	0,0690
922,7	-	-	-	-	-	-
928,3	-	-	-	-	-	-
1058,9	-	-	-	-	-	-
1083,1	-	-	-	-	-	-
1124,9	0,863	0,0915	-	-	0,788	0,0933
1175	-	-	-	-	-	-
1250,3	-	-	-	-	-	-
1269,5	-	-	-	-	-	-
1273,1	-	-	-	-	-	-
1469,3	0,739	0,138	-	-	0,676	0,131
1474,6	0,616	0,161	-	-	0,563	0,150
1500	-	-	-	-	-	-
1615,1	-	-	-	-	-	-
1731,9	0,411	0,199	-	-	0,375	0,183
1735,4	-	-	-	-	-	-
1926,8	-	-	-	-	-	-
Конечная точка: Наблюдаемое n	5,0		3,0			
Ожидаемое n	6,6		1,4			
Наблюдаемая/ожидаемая	0,7574		2,1452			

### Сравнение кривых выживаемости (логранговый критерий)

Хи-квадрат	3,5021
DF	1
Значимость	P = 0,0613

### Отношения рисков <sup>a</sup> с 95% доверительным интервалом

Коэффициент	1	2
1	-	2,8323 от 0,4568 до 17,5600
2	0,3531 от 0,05695 до 2,1890	-

<sup>a</sup> Столбец/строка

## Анализ кривой ROC значений VEGF в 3 сутки жизни

### Анализ кривой ROC

Переменная	VEGF3
Классификационная переменная	Исход
Размер выборки	41
Положительная группа a	8 (19,51%)
Отрицательная группа b	33 (80,49%)

<sup>a</sup> Исход = 1

<sup>b</sup> Исход = 0

### Площадь под кривой ROC (AUC)

Площадь под кривой ROC (AUC)	0,598
Среднеквадратическая ошибка <sup>a</sup>	0,133
Интервал доверия 95% <sup>b</sup>	от 0,434 до 0,748
z-статистика	0,742
Уровень значимости P (площадь = 0,5)	0,4579

<sup>a</sup> Делонг и др. 1988

<sup>b</sup> Биномиальный точный

### Индекс Юдена

Индекс Юдена J	0,3144
Связанный критерий	$\leq 0$
Чувствительность	37,50
Специфичность	93,94

### Значения критерия и координаты кривой ROC

Критерий	Чувствительность	95% CI	Специфичность	95% CI	+LR	95% CI	-LR	95% CI
<0	0,00	0,0 - 36,9	100,00	89,4 - 100,0			1,00	1,0 - 1,0
$\leq 0$	37,50	8,5 - 75,5	93,94	79,8 - 99,3	6,19	1,2 - 31,1	0,67	0,4 - 1,1
$\leq 35,9$	37,50	8,5 - 75,5	90,91	75,7 - 98,1	4,12	1,0 - 16,8	0,69	0,4 - 1,2
$\leq 62,4$	37,50	8,5 - 75,5	87,88	71,8 - 96,6	3,09	0,9 - 11,2	0,71	0,4 - 1,2
$\leq 122,6$	37,50	8,5 - 75,5	84,85	68,1 - 94,9	2,48	0,7 - 8,3	0,74	0,4 - 1,3
$\leq 173$	37,50	8,5 - 75,5	81,82	64,5 - 93,0	2,06	0,7 - 6,5	0,76	0,4 - 1,3
$\leq 209$	37,50	8,5 - 75,5	78,79	61,1 -	1,77	0,6 - 5,4	0,79	0,5 -

				91,0				1,4
≤274,6	37,50	8,5 - 75,5	75,76	57,7 - 88,9	1,55	0,5 - 4,6	0,83	0,5 - 1,5
≤303	37,50	8,5 - 75,5	72,73	54,5 - 86,7	1,37	0,5 - 3,9	0,86	0,5 - 1,5
≤325,8	50,00	15,7 - 84,3	72,73	54,5 - 86,7	1,83	0,8 - 4,5	0,69	0,3 - 1,4
≤380,4	50,00	15,7 - 84,3	69,70	51,3 - 84,4	1,65	0,7 - 3,9	0,72	0,3 - 1,5
≤387,1	50,00	15,7 - 84,3	63,64	45,1 - 79,6	1,37	0,6 - 3,1	0,79	0,4 - 1,6
≤401,1	50,00	15,7 - 84,3	60,61	42,1 - 77,1	1,27	0,6 - 2,9	0,83	0,4 - 1,7
≤418,4	50,00	15,7 - 84,3	57,58	39,2 - 74,5	1,18	0,5 - 2,6	0,87	0,4 - 1,8
≤431,5	50,00	15,7 - 84,3	54,55	36,4 - 71,9	1,10	0,5 - 2,4	0,92	0,4 - 2,0
≤451,2	50,00	15,7 - 84,3	51,52	33,5 - 69,2	1,03	0,5 - 2,2	0,97	0,5 - 2,1
≤472,2	50,00	15,7 - 84,3	48,48	30,8 - 66,5	0,97	0,5 - 2,1	1,03	0,5 - 2,2
≤493,7	50,00	15,7 - 84,3	45,45	28,1 - 63,6	0,92	0,4 - 2,0	1,10	0,5 - 2,4
≤609,1	50,00	15,7 - 84,3	42,42	25,5 - 60,8	0,87	0,4 - 1,8	1,18	0,5 - 2,6
≤630,5	62,50	24,5 - 91,5	42,42	25,5 - 60,8	1,09	0,6 - 2,0	0,88	0,3 - 2,4
≤636	62,50	24,5 - 91,5	39,39	22,9 - 57,9	1,03	0,6 - 1,9	0,95	0,4 - 2,6
≤662,3	62,50	24,5 - 91,5	36,36	20,4 - 54,9	0,98	0,5 - 1,8	1,03	0,4 - 2,8
≤710,6	62,50	24,5 - 91,5	33,33	18,0 - 51,8	0,94	0,5 - 1,7	1,12	0,4 - 3,1
≤827,5	75,00	34,9 - 96,8	33,33	18,0 - 51,8	1,12	0,7 - 1,8	0,75	0,2 - 2,7
≤916,6	87,50	47,3 - 99,7	33,33	18,0 - 51,8	1,31	0,9 - 1,9	0,38	0,06 - 2,5
≤976	87,50	47,3 - 99,7	30,30	15,6 - 48,7	1,26	0,9 - 1,8	0,41	0,06 - 2,8
≤989,1	87,50	47,3 - 99,7	27,27	13,3 - 45,5	1,20	0,9 - 1,7	0,46	0,07 - 3,1
≤1048,9	87,50	47,3 - 99,7	24,24	11,1 - 42,3	1,15	0,8 - 1,6	0,52	0,07 - 3,6
≤1090,2	87,50	47,3 - 99,7	21,21	9,0 - 38,9	1,11	0,8 - 1,5	0,59	0,08 - 4,1
≤1221,5	87,50	47,3 - 99,7	18,18	7,0 - 35,5	1,07	0,8 - 1,5	0,69	0,10 - 4,9
≤1239,2	87,50	47,3 - 99,7	15,15	5,1 - 31,9	1,03	0,8 - 1,4	0,83	0,1 - 6,1
≤1241,3	87,50	47,3 - 99,7	12,12	3,4 - 28,2	1,00	0,7 - 1,3	1,03	0,1 - 8,0
≤1386,4	87,50	47,3 - 99,7	9,09	1,9 - 24,3	0,96	0,7 - 1,3	1,37	0,2 - 11,5
≤1613,8	87,50	47,3 - 99,7	6,06	0,7 - 20,2	0,93	0,7 - 1,2	2,06	0,2 - 20,0

≤1671,8	100,00	63,1 - 100,0	6,06	0,7 - 20,2	1,06	1,0 - 1,2	0,00	
≤1707,7	100,00	63,1 - 100,0	3,03	0,08 - 15,8	1,03	1,0 - 1,1	0,00	
≤1929	100,00	63,1 - 100,0	0,00	0,0 - 10,6	1,00	1,0 - 1,0		

## Сводка случаев

Коэффициент	Число событий <sup>a</sup>		Число цензурированных <sup>b</sup>		Общий размер выборки
	N	%	N	%	
1	1	12,50	7	87,50	8
2	7	21,21	26	78,79	33
Общий	8	19,51	33	80,49	41

<sup>a</sup> Исход – летальный<sup>b</sup> Исход – выжившие

## Среднее и медианное время

Коэффициент	Среднее	SE	95% CI для среднего	Медиана	95% CI для медианы
1	561,883	43,103	от 477,402 до 646,365	-	-
2	448,818	24,707	от 400,393 до 497,243	1671,800	от 1671,800 до 1671,800
Общий	1482,342	130,838	от 1225,900 до 1738,784	1671,800	от 1671,800 до 1671,800

## Таблица дожития

	Коэффициент				Общий	
	1		2			
Выживаемость выживаемости	Пропорция выживаемости	Среднеквадратическая ошибка	Пропорция выживаемости	Среднеквадратическая ошибка	Пропорция выживаемости	Среднеквадратическая ошибка
0	-	-	0,909	0,0500	0,927	0,0407
35,9	-	-	-	-	-	-
62,4	-	-	-	-	-	-
122,6	-	-	-	-	-	-
173	-	-	-	-	-	-
209	-	-	-	-	-	-
274,6	-	-	-	-	-	-
303	-	-	-	-	-	-
325,8	0,833	0,152	-	-	0,895	0,0503
380,4	-	-	-	-	-	-
387,1	-	-	-	-	-	-
401,1	-	-	-	-	-	-
418,4	-	-	-	-	-	-
431,5	-	-	-	-	-	-
451,2	-	-	-	-	-	-
472,2	-	-	-	-	-	-
493,7	-	-	-	-	-	-
609,1	-	-	-	-	-	-
630,5	-	-	0,859	0,0681	0,845	0,0677
636	-	-	-	-	-	-
662,3	-	-	-	-	-	-
710,6	-	-	-	-	-	-
827,5	-	-	0,797	0,0866	0,785	0,0857
916,6	-	-	0,736	0,0993	0,724	0,0981

976	-	-	-	-	-	-
989,1	-	-	-	-	-	-
1048,9	-	-	-	-	-	-
1090,2	-	-	-	-	-	-
1221,5	-	-	-	-	-	-
1239,2	-	-	-	-	-	-
1241,3	-	-	-	-	-	-
1386,4	-	-	-	-	-	-
1613,8	-	-	-	-	-	-
1671,8	-	-	0,491	0,211	0,483	0,208
1707,7	-	-	-	-	-	-
1929	-	-	-	-	-	-
Конечная точка: Наблюдаемое n	1,0		7,0			
Ожидаемое n	0,8		7,2			
Наблюдаемая/ожидаемая	1,2622		0,9712			

### Сравнение кривых выживаемости (логранговый критерий)

Chi-квadrat	0,07055
DF	1
Значимость	P = 0,7905

### Отношения рисков <sup>a</sup> с 95% доверительным интервалом

Коэффициент	1	2
1	-	0,7694 от 0,07562 до 7,8286
2	1,2997 от 0,1277 до 13,2235	-

<sup>a</sup> Столбец/строка

### Анализ кривой ROC значений VEGF в 7 сутки жизни

#### Анализ кривой ROC

Переменная	VEGF7
Классификационная переменная	Исход
Размер выборки	39
Положительная группа a	6 (15,38%)
Отрицательная группа b	33 (84,62%)

<sup>a</sup> Исход = 1

<sup>b</sup> Исход = 0

#### Площадь под кривой ROC (AUC)

Площадь под кривой ROC (AUC)	0,646
Среднеквадратическая ошибка <sup>a</sup>	0,125
Интервал доверия 95% <sup>b</sup>	от 0,477 до 0,792
z-статистика	1,175

Уровень значимости P (площадь = 0,5)	0,2401
--------------------------------------	--------

<sup>a</sup> Делонг и др. 1988

<sup>b</sup> Биномиальный точный

### Индекс Юдена

Индекс Юдена J	0,3182
Связанный критерий	≤776,6
Чувствительность	83,33
Специфичность	48,48

### Значения критерия и координаты кривой ROC

Критерий	Чувствительность	95% CI	Специфичность	95% CI	+LR	95% CI	-LR	95% CI
<0	0,00	0,0 - 45,9	100,00	89,4 - 100,0			1,00	1,0 - 1,0
≤0	16,67	0,4 - 64,1	93,94	79,8 - 99,3	2,75	0,3 - 25,8	0,89	0,6 - 1,3
≤3,4	16,67	0,4 - 64,1	90,91	75,7 - 98,1	1,83	0,2 - 14,8	0,92	0,6 - 1,3
≤17,4	16,67	0,4 - 64,1	87,88	71,8 - 96,6	1,37	0,2 - 10,3	0,95	0,6 - 1,4
≤52,1	16,67	0,4 - 64,1	84,85	68,1 - 94,9	1,10	0,2 - 7,8	0,98	0,7 - 1,4
≤80,1	33,33	4,3 - 77,7	84,85	68,1 - 94,9	2,20	0,5 - 8,8	0,79	0,4 - 1,4
≤83,9	33,33	4,3 - 77,7	81,82	64,5 - 93,0	1,83	0,5 - 7,0	0,81	0,5 - 1,5
≤99,8	33,33	4,3 - 77,7	78,79	61,1 - 91,0	1,57	0,4 - 5,8	0,85	0,5 - 1,5
≤249,1	50,00	11,8 - 88,2	78,79	61,1 - 91,0	2,36	0,8 - 6,6	0,63	0,3 - 1,4
≤291,9	50,00	11,8 - 88,2	75,76	57,7 - 88,9	2,06	0,8 - 5,6	0,66	0,3 - 1,5
≤311,9	50,00	11,8 - 88,2	72,73	54,5 - 86,7	1,83	0,7 - 4,9	0,69	0,3 - 1,6
≤351,6	50,00	11,8 - 88,2	69,70	51,3 - 84,4	1,65	0,6 - 4,3	0,72	0,3 - 1,6
≤355,5	50,00	11,8 - 88,2	66,67	48,2 - 82,0	1,50	0,6 - 3,8	0,75	0,3 - 1,7
≤421,8	50,00	11,8 - 88,2	63,64	45,1 - 79,6	1,37	0,5 - 3,4	0,79	0,3 - 1,8
≤446,1	50,00	11,8 - 88,2	60,61	42,1 - 77,1	1,27	0,5 - 3,1	0,83	0,4 - 1,9
≤484,4	50,00	11,8 - 88,2	57,58	39,2 - 74,5	1,18	0,5 - 2,9	0,87	0,4 - 2,0
≤564,9	66,67	22,3 - 95,7	57,58	39,2 - 74,5	1,57	0,8 - 3,1	0,58	0,2 - 1,9
≤607	66,67	22,3 - 95,7	54,55	36,4 - 71,9	1,47	0,7 - 2,9	0,61	0,2 - 2,0
≤663	66,67	22,3 - 95,7	51,52	33,5 - 69,2	1,37	0,7 - 2,7	0,65	0,2 - 2,1
≤724,5	66,67	22,3 - 95,7	48,48	30,8 - 66,5	1,29	0,7 - 2,5	0,69	0,2 - 2,2
≤776,6	83,33	35,9 - 99,6	48,48	30,8 - 66,5	1,62	1,0 - 2,6	0,34	0,06 - 2,1
≤808,8	83,33	35,9 - 99,6	45,45	28,1 - 63,6	1,53	1,0 - 2,5	0,37	0,06 - 2,3
≤812,2	83,33	35,9 - 99,6	42,42	25,5 - 60,8	1,45	0,9 - 2,3	0,39	0,06 - 2,5
≤840,8	83,33	35,9 - 99,6	39,39	22,9 - 57,9	1,37	0,9 - 2,2	0,42	0,07 - 2,7
≤921,4	83,33	35,9 - 99,6	36,36	20,4 - 54,9	1,31	0,8 - 2,0	0,46	0,07 - 2,9
≤938,7	83,33	35,9 - 99,6	33,33	18,0 - 51,8	1,25	0,8 - 1,9	0,50	0,08 - 3,2
≤939,7	83,33	35,9 - 99,6	30,30	15,6 - 48,7	1,20	0,8 - 1,8	0,55	0,09 - 3,5
≤940,7	83,33	35,9 - 99,6	27,27	13,3 - 45,5	1,15	0,8 - 1,7	0,61	0,09 - 4,0
≤981,5	83,33	35,9 - 99,6	24,24	11,1 - 42,3	1,10	0,7 - 1,7	0,69	0,1 - 4,5
≤981,7	83,33	35,9 - 99,6	21,21	9,0 - 38,9	1,06	0,7 - 1,6	0,79	0,1 - 5,3
≤1034,7	100,00	54,1 - 100	21,21	9,0 - 38,9	1,27	1,1 - 1,5	0,00	
≤1074,1	100,00	54,1 - 100	18,18	7,0 - 35,5	1,22	1,0 - 1,4	0,00	
≤1135,6	100,00	54,1 - 100	15,15	5,1 - 31,9	1,18	1,0 - 1,4	0,00	
≤1265	100,00	54,1 - 100	12,12	3,4 - 28,2	1,14	1,0 - 1,3	0,00	
≤1596,5	100,00	54,1 - 100	9,09	1,9 - 24,3	1,10	1,0 - 1,2	0,00	
≤1719,5	100,00	54,1 - 100	6,06	0,7 - 20,2	1,06	1,0 - 1,2	0,00	
≤1726,2	100,00	54,1 - 100	3,03	0,08 - 15,8	1,03	1,0 - 1,1	0,00	
≤1915	100,00	54,1 - 100	0,00	0,0 - 10,6	1,00	1,0 - 1,0		

## Сводка случаев

Коэффициент	Число событий <sup>a</sup>		Число цензурированных <sup>b</sup>		Общий размер выборки
	N	%	N	%	
1	4	18,18	18	81,82	22
2	2	11,76	15	88,24	17
Общий	6	15,38	33	84,62	39

<sup>a</sup> Исход – летальный<sup>b</sup> Исход – выжившие

## Среднее и медианное время

Коэффициент	Среднее	SE	95% CI для среднего	Медиана	95% CI для медианы
1	1255,994	213,161	от 838,199 до 1673,789	-	-
2	1729,676	123,884	от 1486,863 до 1972,488	-	-
Общий	1557,462	132,436	от 1297,887 до 1817,038	-	-

## Таблица дожития

Выживаемость выживаемости	Коэффициент				Общий	
	1		2		Пропорция выживаемости	Среднеквадратическая ошибка
	Пропорция выживаемости	Среднеквадратическая ошибка	Пропорция выживаемости	Среднеквадратическая ошибка		
0	0,955	0,0444	-	-	0,974	0,0253
3,4	-	-	-	-	-	-
17,4	-	-	-	-	-	-
52,1	-	-	-	-	-	-
80,1	0,895	0,0712	-	-	0,945	0,0380
83,9	-	-	-	-	-	-
99,8	-	-	-	-	-	-
249,1	0,826	0,0932	-	-	0,913	0,0481
291,9	-	-	-	-	-	-
311,9	-	-	-	-	-	-
351,6	-	-	-	-	-	-
355,5	-	-	-	-	-	-
421,8	-	-	-	-	-	-
446,1	-	-	-	-	-	-
484,4	-	-	-	-	-	-
564,9	0,661	0,166	-	-	0,872	0,0612
607	-	-	-	-	-	-
663	-	-	-	-	-	-
724,5	-	-	-	-	-	-
776,6	-	-	0,941	0,0571	0,823	0,0746
808,8	-	-	-	-	-	-
812,2	-	-	-	-	-	-
840,8	-	-	-	-	-	-
921,4	-	-	-	-	-	-
938,7	-	-	-	-	-	-
939,7	-	-	-	-	-	-
940,7	-	-	-	-	-	-
981,5	-	-	-	-	-	-
981,7	-	-	-	-	-	-
1034,7	-	-	0,807	0,134	0,720	0,116
1074,1	-	-	-	-	-	-
1135,6	-	-	-	-	-	-
1265	-	-	-	-	-	-

1596,5	-	-	-	-	-	-
1719,5	-	-	-	-	-	-
1726,2	-	-	-	-	-	-
1915	-	-	-	-	-	-
Конечная точка: Наблюдаемое n	4,0		2,0			
Ожидаемое n	1,9		4,1			
Наблюдаемая/ожидаемая	2,1163		0,4866			

### Сравнение кривых выживаемости (логранговый критерий)

Хи-квадрат	4,1269
DF	1
Значимость	P = 0,0422

### Отношения рисков <sup>a</sup> с 95% доверительным интервалом

Коэффициент	1	2
1	-	0,2299 от 0,04107 до 1,2874
2	4,3488 от 0,7767 до 24,3483	-

<sup>a</sup> Столбец/строка

**Расчет значений Хи-квадрата. Сравнительный анализ матерей глубоко недоношенных детей и женщин контрольной группы по наличию полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2**

Шестипольная таблица сопряженности

1-й признак	есть	нет	Итог
2-й признак			
1 группа	23	19	<b>42</b>
	54,8 ± 7,7	14.0	100,0
	60,5 ± 7,9	15.0	48,8 ± 5,4
	26,7 ± 4,8	22,1 ± 4,5	
2 группа	3	14	<b>17</b>
	12.0	82,4 ± 9,2	100,0
	7,9 ± 4,4	29,2 ± 11,7	19,8 ± 4,3
	3,5 ± 2,0	16,3 ± 4,0	
3 группа	12	15	<b>27</b>
	44,4 ± 9,6	55,6 ± 9,6	100,0
	31,6 ± 7,5	31,3 ± 6,7	31,4 ± 5,0
	14,0 ± 3,7	17,4 ± 4,1	
<b>Итог</b>	<b>38</b> 44,2 ± 5,4 100,0	<b>48</b> 55,8 ± 5,4 100,0	<b>86</b> <b>100,0</b> <b>100,0</b>

Нулевая гипотеза

1-й признак	есть	нет	Итог
2-й признак			
1 группа	19	23	<b>42</b>
	54,8 ± 7,7	14.0	100,0
	60,5 ± 7,9	15.0	48,8 ± 5,4
	26,7 ± 4,8	22,1 ± 4,5	
2 группа	8	9	<b>17</b>
	12.0	82,4 ± 9,2	100,0
	7,9 ± 4,4	29,2 ± 11,7	19,8 ± 4,3
	3,5 ± 2,0	16,3 ± 4,0	
3 группа	12	15	<b>27</b>
	44,2 ± 9,6	55,8 ± 9,6	100,0
	31,4 ± 7,5	31,4 ± 6,7	31,4 ± 5,0
	13,9 ± 3,7	17,5 ± 4,1	
<b>Итог</b>	<b>38</b> 44,2 ± 5,4 100,0	<b>48</b> 55,8 ± 5,4 100,0	<b>86</b> <b>100,0</b> <b>100,0</b>

**Расчетные данные ROC анализа и сравнения кривых ROC для  
прогностической модели тяжести состояния, используемой в первые сутки  
жизни**

## ROC анализ

Фактически Методика	Тяжелая степень и летальность		Итог
	Присутствует	Отсутствует	
Определены как тяжелые	9	1	10
	90,0 ± 9,5	10,0 ± 9,5	100,0
	90,0 ± 9,5	7,7 ± 7,4	43,5 ± 10,3
Определены как не тяжелые	1	12	13
	7,7 ± 7,4	92,3 ± 7,4	100,0
	10,0 ± 9,5	92,3 ± 7,4	56,5 ± 10,3
Итог	10	13	23
	43,5 ± 10,3	56,5 ± 10,3	100,0
	100,0	100,0	100,0

**Сравнение кривых ROC**

Переменная 1 – темп диуреза в 1 сутки жизни;

Переменная 2 – уровень лактата в крови в 1 сутки жизни;

Переменная 3 – уровень гемоглобина в ОАК в 1 сутки жизни;

Классификационная переменная – тяжесть состояния по шкале NEOMOD на 7 суток жизни.

Размер выборки – 23 человека, положительная группа 10 детей (43,48 %), отрицательная группа 13 детей (56,52 %).

**Сравнение кривых ROC**

Переменная	AUC	SE <sup>a</sup>	95% CI <sup>b</sup>
Темп диуреза	0,723	0,109	от 0,499 до 0,887
Лактат	0,800	0,101	от 0,582 до 0,936
Гемоглобин	0,838	0,0907	от 0,627 до 0,957

<sup>a</sup> Делонг и др. 1988

<sup>b</sup> Биномиальный точный

## Парное сравнение кривых ROC

Темп_диуреза ~ Лактат	
Разность площадей	0,0769
Среднеквадратическая ошибка <sup>a</sup>	0,180
Интервал доверия 95%	от -0,276 до 0,430
z-статистика	0,428
Уровень значимости	P = 0,6690
Темп_диуреза ~ Гемоглобин	
Разность площадей	0,115
Среднеквадратическая ошибка <sup>a</sup>	0,158
Интервал доверия 95%	от -0,193 до 0,424
z-статистика	0,732
Уровень значимости	P = 0,4640
Лактат ~ Гемоглобин	
Разность площадей	0,0385
Среднеквадратическая ошибка <sup>a</sup>	0,132
Интервал доверия 95%	от -0,220 до 0,297
z-статистика	0,292
Уровень значимости	P = 0,7703

<sup>a</sup> Делонг и др. 1988

**Расчетные данные ROC анализа и сравнения кривых ROC для  
прогностической модели тяжести состояния, используемой в трети сутки  
жизни**

## ROC анализ

Фактически Методика	Тяжелая степень и летальность		Итого
	Присутствует	Отсутствует	
Определены как тяжелые	9 100,0 ± 0,0 90,0 ± 9,5	0	9 100,0 39,1 ± 10,2
Определены как не тяжелые	1 7,1 ± 6,9 10,0 ± 9,5	13 92,9 ± 6,9 100,0 ± 0,0	14 100,0 60,9 ± 10,2
Итого	10 43,5 ± 10,3 100,0	13 56,5 ± 10,3 100,0	23 100,0 100,0

**Сравнение кривых ROC**

Переменная 1 – уровень лактата в крови на 3 сутки жизни;

Переменная 2 – количество эритроцитов в ОАК в 3 сутки жизни;

Переменная 3 – уровень гематокрита в ОАК в 3 сутки жизни;

Классификационная переменная – тяжесть состояния по шкале NEOMOD на 7 сутки жизни.

Размер выборки – 23 человека, положительная группа 10 детей (43,48 %), отрицательная группа 13 детей (56,52 %).

**Сравнение кривых ROC**

Переменная	AUC	SE <sup>a</sup>	95% CI <sup>b</sup>
Лактат	0,862	0,0910	от 0,654 до 0,969
Эритроциты	0,877	0,0836	от 0,673 до 0,976
Гематокрит	0,858	0,0803	от 0,650 до 0,967

<sup>a</sup> Делонг и др. 1988

<sup>b</sup> Биномиальный точный

## Парное сравнение кривых ROC

Лактат ~ Эритроциты	
Разность площадей	0,0154
Среднеквадратическая ошибка <sup>a</sup>	0,128
Интервал доверия 95%	от -0,235 до 0,266
z-статистика	0,120
Уровень значимости	P = 0,9041
Лактат ~ Гематокрит	
Разность площадей	0,00385
Среднеквадратическая ошибка <sup>a</sup>	0,131
Интервал доверия 95%	от -0,253 до 0,260
z-статистика	0,0294
Уровень значимости	P = 0,9766
Эритроциты ~ Гематокрит	
Разность площадей	0,0192
Среднеквадратическая ошибка <sup>a</sup>	0,0492
Интервал доверия 95%	от -0,0771 до 0,116
z-статистика	0,391
Уровень значимости	P = 0,6956

<sup>a</sup> Делонг и др. 1988