

- gepatologii, koloproktologii. 2010; 20 (1 Suppl. 35): 24. (in Russian)
33. Clemente M., Núñez O., Lorente R., Rincón D., Matilla A., Salcedo M. et al. Increased intrahepatic and circulating levels of endoglin, a TGF-beta1 co-receptor, in patients with chronic hepatitis C virus infection: relationship to histological and serum markers of hepatic fibrosis. *J. Viral Hepat.* 2006; 13 (9): 625—32.
34. Marek B., Kajdaniuk D., Janczewska-Kazek E., Beniowski M., Swietochowska E., Kos-Kudła B. et al. Serum aminoterminal peptide of type III procollagen (PIIINP) and transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta1) levels in patients with chronic hepatitis B and C. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2003; 109 (6): 603—8.
35. Kanzler S., Baumann M., Schirmacher P., Dries V., Bayer E., Gerken G. et al. Prediction of progressive liver fibrosis in hepatitis C infection by serum and tissue levels of transforming growth factor-beta. *J. Viral Hepat.* 2001; 8 (6): 430—7.
36. Flisiak R., Maxwell P., Prokopowicz D., Timms P.M., Panasiuk A. Plasma tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and transforming growth factor beta 1 — possible non-invasive biomarkers of hepatic fibrosis in patients with chronic B and C hepatitis. *Hepatogastroenterology.* 2002; 49 (47): 1369—72.
37. Vashurina T.V. *Cytokines and Adhesion Molecules in the Pathogenesis of Primary Chronic Glomerulonephritis in Children*: Diss. Moscow; 2001. (in Russian)
38. Kucherenko A.G., Paunova S.S., Smirnov I.E., Khvorostov I.L. Cytokines in some forms of obstructive uropathy in children. *Voprosy sovremennoy pediatrii.* 2004; 3 (2): 82—3. (in Russian)
39. Bando E., Yonemura Y., Endou Y., Sasaki T., Taniguchi K., Fujita H. et al. Immunohistochemical study of MT-MMP tissue status in gastric carcinoma and correlation with survival analyzed by univariate and multivariate analysis. *Oncol. Rep.* 1998; 5 (6): 1483—8.
40. Hazelbag S., Gorter A., Kenter G.G., van den Broek L., Fleuren G. Transforming growth factor-beta1 induces tumor stroma and reduces tumor infiltrate in cervical cancer. *Hum. Pathol.* 2002; 33 (12): 1193—9.
41. Surkov A.N., Smirnov I.E., Kucherenko A.G., Potapov A.S., Gerasimova N.P., Zinov'eva A.E. The relationship of serum markers of fibrosis with changes of structural-functional state of the liver in children. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal.* 2010; (2): 28—31. (in Russian)

Received 10.12.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.24-008.64-036.11-053.31-07:616-018.74

Кузьменко Г.Н., Назаров С.Б., Малышкина А.И., Попова И.Г.

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С РЕСПИРАТОРНЫМ ДИСТРЕСС-СИНДРОМОМ

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, 153045, Иваново, Российская Федерация

Обследовано 637 недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде на 1—3-и и 5—8-е сутки жизни. Исследовались показатели, характеризующие состояние эндотелия и регулирующие его функцию. Отмечено, что у недоношенных новорожденных с респираторным дистресс-синдромом нарушения регуляции функции эндотелия сопровождаются нарастанием гемостатических расстройств и характеризуются повышением тромбогенных и адгезивных свойств, снижением уровней VEGF, высоким содержанием оксида азота в форме нитритов, цитокинемией и активацией систем комплемента.

Ключевые слова: недоношенные новорожденные; дисфункция эндотелия; респираторный дистресс-синдром; гемостатические нарушения.

Для цитирования: Кузьменко Г.Н., Назаров С.Б., Малышкина А.И., Попова И.Г. Особенности функции эндотелия у недоношенных новорожденных с респираторным дистресс-синдромом. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2016; 61 (4): 214-219

DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-4-214-219

Kuzmenko G.N., Nazarov S.B., Malyshkina A.I., Popova I.G.

THE CHARACTERISTICS OF FUNCTION OF ENDOTHELIUM IN PREMATURE NEONATES WITH RESPIRATORY DISTRESS-SYNDROME

The V.N. Gorodkov Ivanovskii research institute of maternity and childhood of Minzdrav of Russia, 153045 Ivanovo, Russia

The examined sampling consisted of 637 premature neonates in early neonatal period at 1-3 and 5-8 days of life. The analysis was applied to indices characterizing epithelium condition and regulating its function. It is noted that in premature neonates with respiratory distress-syndrome of derangement of regulation of function of endothelium are accompanied by increasing of hemostatic disorders and is characterized by increasing of thrombogenic and adhesive characteristics, decreasing of levels of VEGF, higher content of nitric oxide in the form of nitrites, cytokinemia and activation of complement systems.

Key words: premature neonates; endothelium dysfunction; respiratory distress-syndrome; hemostatic disorders

For citation: Kuzmenko G.N., Nazarov S.B., Malyshkina A.I., Popova I.G. The characteristics of function of endothelium in premature neonates with respiratory distress-syndrome. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2016; 61 (4): 214-219. (in Russ.)

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-214-219

Для корреспонденции: Кузьменко Галина Николаевна — доктор мед. наук, заведующая клинико-диагностической лабораторией, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической биохимии и генетики ФГБУ ИвНИИМиД им. В.Н. Городкова Минздрава России, 153045, Иваново, Российская Федерация, E-mail: kuzmenko_gnk@mail.ru

For correspondence: *Kuzmenko G.N.*, doctor of medical sciences, head of clinical diagnostic laboratory, leading research worker of laboratory of clinical biochemistry and genetics. e-mail: kuzmenko_gnk@mail.ru

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Financing. *The study had no sponsor support.*

Received 01.09.2015
Accepted 15.12.2015

Введение. Респираторный дистресс-синдром (РДС) является наиболее частой причиной возникновения дыхательной недостаточности у недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде, он сопровождается эндотелиальными нарушениями, но остаются нерешенными вопросы их диагностики. Поражение сосудистой стенки (в первую очередь эндотелия) приводит к формированию эндотелиальной дисфункции (ЭД). В настоящее время под этим термином понимают состояние эндотелия, сопровождающееся не только вазоконстрикцией, но и усиленной выработкой веществ, обладающих провоспалительными и протромботическими свойствами [1]. Вопросы регуляции его функции у недоношенных новорожденных освещены в единичных исследованиях [2].

Цель исследования — установить особенности ЭД у недоношенных новорожденных с РДС, дать характеристику выраженности и определить механизмы ее развития.

Материал и методы. Работа выполнена на базе Ивановского НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова в акушерской клинике, отделении детской реанимации, физиологии и патологии новорожденных и лаборатории клинической биохимии. Основу работы составил анализ данных клинико-анамнестических наблюдений и комплексного лабораторно-инструментального обследования 637 недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде на 1—3-и и 5—8-е сутки жизни. Состояние эндотелия изучено у 550 детей с РДС, в том числе у 159 — с легким РДС (РДС I), 284 — средней тяжести (РДС II), 107 — с тяжелым (РДС III), а также у 87 условно здоровых недоношенных новорожденных, родившихся на сроке гестации 35—36 нед (группа сравнения). Средние показатели массы тела у новорожденных с РДС I составили $2310,9 \pm 39,5$ г (гестационный возраст $34,9 \pm 0,12$ нед); у детей с РДС II — $1827,1 \pm 31,6$ г (гестационный возраст $32,5 \pm 0,14$ нед); с РДС III — $1611,8 \pm 62,5$ г (гестационный возраст $30,6 \pm 0,31$ нед). Контрольную группу представляли недоношенные новорожденные со средней массой тела $2493 \pm 29,1$ г (гестационный возраст $35,6 \pm 0,42$ нед).

Критериями включения детей в группу сравнения стали недоношенность и отсутствие заболеваний. В число новорожденных с РДС, развивающийся с первых часов жизни входили те, у которых были гестационный возраст (ГВ) менее 37 нед и потребность в оксигенации. Тяжесть РДС клинически определялась по шкале Downes, показателям кислотно-основного состояния и газов крови, рентгенологической картине легких. Исключались дети с гемолитической болезнью, сепсисом, менингитом, диафрагмальной грыжей, пороками развития, аспирацией мекония, травматическими перинатальными поражениями ЦНС.

Оценка нарушений дыхательной системы состояла из клинических признаков, выраженных в баллах (учитывали наличие цианоза, признаков ригидности грудной клетки, изменение характера дыхания, его частоты и ритма, степень кислородозависимости, втяжение уступчивых мест грудной клетки и участие в акте дыхания вспомогательной мускулатуры, данные перкуторного и аускультативного исследования). Признаки нарушений функции ЦНС составили суммарную оценку неврологического статуса в баллах (состояние сознания, двигательная активность, мышечный тонус, вы-

раженность безусловных рефлексов, симптомы поражения черепно-мозговых нервов, наличие судорог и признаков внутричерепной гипертензии). Кроме того, учитывали суммарную оценку выраженности геморрагического синдрома (петехии, экхимозы, гематомы, легочные, желудочно-кишечные кровотечения и кровоизлияния во внутренние органы).

Все исследования выполнены в соответствии с этическими нормами, кровь забирали после получения информированного согласия матерей. Анализировались показатели, характеризующие состояние эндотелия и регулирующие его функцию. Уровень фактора Виллебранда (vWF) определяли на анализаторе гемостаза STACompact фирмы DiagnosticaStago (Франция) набором реактивов STA Liatest-vWF методом латексной агглютинации с моноклональными антителами. Оценка концентрации оксида азота (NO) в сыворотке крови выполнена по уровням нитритов фотометрическим методом с реактивом Грисса. Свободную фракцию сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) исследовали методом ИФА, реактивами фирмы Cytimmune-SciencesInc. (США), оценку адгезивной функции эндотелия — по уровню молекул адгезии (sVCAM-1) методом ИФА, набором реактивов фирмы Bender Med Systems (Австрия), на автоматическом ридере «EL 808» фирмы BIO-ТЕК (США). Для оценки системной активации эндотелия исследовали уровни интерлейкина 8, 6 (IL-8 и IL-6). IL-6 определяли методом иммунохемилюминесцентного анализа на системе IMMULITE (DPC) набором реактивов DPC и IL-8 определяли ИФА методом, набором фирмы CytElisatm на автоматическом ридере EL-808. Уровни D-димера исследовали реактивами STA LiatestD-DI методом латексной агглютинации с использованием моноклональных антител, РФМК — реактивами «РФМК-тест» (Барнаул). Интенсивность свободнорадикального окисления липидов (СРО) оценивали по показателям малонового диальдегида (МДА) при помощи реакции с тиобарбитуровой кислотой, состояние антиоксидантной системы — по показателям церулоплазмина (ЦП) (реактивы Sentinel CH, Италия). Комплемент C3с и C4 определяли методом иммунотурбодиметрии реактивами Unimate 3-C3с и Unimate 3-C4. Основные субстраты эндотоксикоза, представленные молекулами средней массы (MCM), регистрировали при длине волн 280 и 254 нм с оценкой спектрограмм супернатанта на спектрофотометре.

Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью компьютерной программы статистической обработки данных Statistica 6.0 for Windows. Для оценки количественных показателей определялись: среднее значение (M), среднее квадратичное отклонение (σ), стандартная ошибка (m). Определение достоверности различий выполнено с помощью t -критерия Стьюдента. Корреляционный анализ проведен с использованием коэффициента линейной корреляции Пирсона и коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Выполнен дисперсионный анализ (ANOVA) и оценка силы влияния (η^2) по Н.А. Плехинскому [3].

Результаты и обсуждение. Изучали функцию эндотелия у недоношенных новорожденных с РДС различной степени тяжести в динамике раннего неонатального периода. Данные представлены в таблице.

Маркером развития ЭД является повышение уровней фактора Виллебранда [4]. У новорожденных со средней степенью

Показатели, характеризующие функцию эндотелия недоношенных новорожденных с РДС различной степени тяжести, в динамике раннего неонатального периода, ($M \pm m$; n — число исследований)

Показатель	Возраст, дни	Группа обследованных детей с РДС							
		контрольная		I степени тяжести		II степени тяжести		III степени тяжести	
VEGF, пг/мл	1—3-й	377,4 ± 44,9	25	420,3 ± 43,9	22	243,3 ± 29,6" $p < 0,02$	49	144,1 ± 37,920 $p < 0,001$	20
	5—8-й	266,6 ± 51,6	15	210,5 ± 52,8*	12	240,2 ± 28,9	43	183,7 ± 48,7	12
Нитриты, мкмоль/л	1—3-й	8,0 ± 0,76	33	11,2 ± 0,52 $p < 0,001$	48	15,3 ± 0,47" $p < 0,00001$	90	18,7 ± 0,62" $p < 0,00001$	59
	5—8-й	9,6 ± 0,75	16	12,9 ± 0,99 $p < 0,02$	14	14,7 ± 0,93 $p < 0,005$	47	20,5 ± 2,39" $p < 0,00001$	11
vWF, %	1—3-й	124,7 ± 13,5	20	154,0 ± 9,26	52	179,7 ± 10,7 $p < 0,02$	89	246,4 ± 13,9" $p < 0,00001$	44
	5—8-й	101,4 ± 6,1	16	149,3 ± 14,1 $p < 0,02$	27	187,4 ± 17,9 $p < 0,005$	42	288,3 ± 30,5" $p < 0,00001$	20

Примечание. p — достоверность различий по сравнению с контрольной группой; " — различия достоверны по сравнению с предыдущей группой ($p < 0,05$); * — различия достоверны в динамике на 5—8-й дни жизни внутри групп ($p < 0,05$).

тяжести и тяжелым РДС в 1—3-и сутки жизни отмечено повышение уровней vWF относительно группы сравнения (см. таблицу). В динамике раннего неонатального периода такой рост характеризовался наиболее высокими показателями у детей с тяжелым РДС. Частота встречаемости у детей повышенных уровней vWF возрастала от 40,4 и 55,1% до 84,1% (при легком, средней тяжести и тяжелом РДС соответственно), в остром и в подостром периодах от 66,7 и 73,8% до 90,0% (аналогично) заболевания. Выявлено нарастание тромбогенных свойств эндотелия по мере утяжеления заболевания. Зарегистрирована взаимосвязь выраженности неврологической симптоматики у детей: от тяжелых (кома или судороги) до минимальных (гипервозбудимость, тремор) расстройств и уровней vWF. Корреляционные коэффициенты оценки неврологического статуса в баллах и уровней vWF в первые дни и на 5—8-й дни жизни составили $r = 0,37$, $p < 0,0001$ и $r = 0,45$, $p < 0,0001$ соответственно. Наряду с повреждениями геморрагического характера, у новорожденных часто встречались ишемические нарушения, локализация и распространенность которых зависела от гестационного возраста ребенка. Уровни vWF взаимосвязаны с тяжестью церебральной ишемии (в первые дни $r = 0,32$, $p < 0,0001$, 5—8-й дни — $r = 0,35$, $p < 0,0001$), с тяжестью ВЖК ($r = 0,26$ — в первые дни и $r = 0,30$ — на 5—8-й дни, $p < 0,0001$), что иллюстрирует нарастание тромбогенного потенциала эндотелия по мере увеличения тяжести перинатальных поражений ЦНС. Выявлены корреляционные связи vWF с выраженностью клинических проявлений дистресса в первые и 5—8-й дни жизни ($r = 0,37$, $p < 0,0001$ и $r = 0,53$, $p < 0,0001$). Связь показателей vWF с показателями вдыхаемой фракции кислорода (FiO_2 — $r = 0,36$; $p = 0,0001$), длительностью искусственной вентиляции легких (ИВЛ) в 1—3-й и 5—8-й дни жизни ($r = 0,42$ и $r = 0,47$; $p = 0,0001$) подтверждает участие процессов гипоксии и реоксигенации в развитии ЭД. Нарастание прокоагулянтного статуса эндотелия взаимосвязано с уровнями МДА ($r = 0,23$, $p < 0,02$) и церулоплазмينا ($r = -0,37$, $p < 0,05$). Уровни МДА достоверно повышались (относительно группы сравнения) при развитии у детей РДС I, РДС II и III степени тяжести и составили соответственно $5,94 \pm 0,22$ и $6,90 \pm 0,28$ нмоль/мл, $p < 0,02$; $6,96 \pm 0,15$ нмоль/мл, $p < 0,01$; $7,92 \pm 0,42$ нмоль/мл, $p < 0,001$. Уровни ЦП достоверно снижались (в сопоставлении с группой сравнения) при развитии РДС III степени и составили соответственно $13,7 \pm 0,52$ и $9,94 \pm 0,72$ мг/дл, $p < 0,001$. Методом статистического анализа установлено наличие прямой корреляции vWF с показателями Д-димера на 5—8-й дни жизни ($r = 0,53$, $p < 0,0001$) и РФМК ($r = 0,26$, $p < 0,05$). Уровни Д-димера у детей повышались на 5—8-й дни

(в сопоставлении с группой сравнения) при развитии РДС I, РДС II и III степени тяжести и составили соответственно $0,60 \pm 0,07$ и $0,95 \pm 0,07$ мкг/мл, $p < 0,01$, $1,98 \pm 0,54$ мкг/мл, $p < 0,02$, $1,29 \pm 0,10$ мкг/мл, $p < 0,0001$. Связь нарастания прокоагулянтного статуса эндотелия с усилением фибринолиза объясняется участием эндотелия в его регуляции, что сопровождается тромбинемией. Выявлены корреляции vWF с нитритами ($r = 0,41$, $p < 0,001$ в 1—3-й дни и $r = 0,62$, $p < 0,001$ в динамике). Выявлены корреляции vWF с МСМ ($r = 0,48$, $p = 0,05$), уровни которых достоверно повышались (в соответствии с группой сравнения) при развитии РДС I, II и III и составили также $0,13 \pm 0,01$ усл. ед., $0,21 \pm 0,02$ усл. ед., $p < 0,01$, $0,27 \pm 0,01$ усл. ед., $p < 0,0001$, $0,57 \pm 0,07$ усл. ед., $p < 0,0001$.

Сосудисто-эндотелиальный фактор роста — один из специфичных для эндотелиальных клеток маркер, который регулирует ангиогенез и васкулогенез. Выявлено снижение уровней VEGF на системном уровне у новорожденных в первые дни жизни с РДС средней тяжести и тяжелым (см. таблицу). Также самое отмечалось у 31,8% детей с легким, у 69,4% — с РДС средней тяжести и у 80,0% новорожденных с тяжелым РДС является, на наш взгляд, фактором, затрудняющим ангиогенез, поскольку низкие уровни VEGF замедляет его, индуцируют апоптоз эндотелиальных клеток [5, 6]. Установлена обратная связь VEGF с FiO_2 ($r = -0,25$, $p < 0,01$) и МДА ($r = -0,50$, $p < 0,05$). Корреляции VEGF с IL-8 ($r = -0,45$, $p < 0,0001$), IL-6 ($r = -0,53$, $p < 0,02$), нитритами ($r = -0,41$, $p < 0,0001$), МСМ ($r = -0,63$, $p < 0,001$) показывают, что при снижении циркуляции VEGF у детей нарастали нитритемия, цитокинемия и признаки эндогенной интоксикации. У новорожденных с ДВС-синдромом в первые три дня жизни показатели VEGF были ниже, чем у детей без ДВС-синдрома ($121,4 \pm 39,3$ и $315,4 \pm 22,5$ пг/мл, $p = 0,0016$), у новорожденных с легочным кровотечением — в 2 раза ниже ($156,6 \pm 62,5$ пг/мл), чем у детей без кровотечения ($302,9 \pm 22,6$ пг/мл), а на 5—8-й день — в 3 раза ($78,8 \pm 33,7$ и $243,4 \pm 22,5$ пг/мл соответственно, $p < 0,05$). Корреляционные связи уровней VEGF с тяжестью РДС, составили $r = -0,44$, $p < 0,01$, с оценкой выраженности дыхательных расстройств — $r = -0,34$, $p < 0,0001$ и геморрагического синдрома — $r = -0,33$, $p < 0,0001$.

Многочисленные исследования, проведенные у взрослых с различной патологией, свидетельствуют о ведущей роли в развитии ЭД системы оксида азота. В результате исследований выявлено, что уровни нитритов крови у детей с РДС увеличивались (см. таблицу). У детей с тяжелой респираторной недостаточностью отмечено увеличение нитритов в 2 раза в соответствии с группой сравнения, что является фактором,

способствующим гипотонии. Результаты предыдущих исследований показали, что избыток NO сопровождается гипотонией [7]. Корреляционные связи выявлены среди показателей нитритов с выраженностью геморрагического синдрома (от легких в виде петехий до тяжелых кровотечений) у детей с РДС составили $r = 0,47$ ($p < 0,001$), с выраженностью отеочного синдрома — $r = 0,35$ в остром и в подостром периодах $r = 0,44$ ($p < 0,0001$). Установлена негативная связь между NO и VEGF у детей с РДС ($r = -0,41$), что может быть фактором, затрудняющим ангиогенез при нарушениях сигнального пути VEGF-NO. Усиленное образование нитритов сопровождалось увеличением уровней IL-6 и IL-8, направленность связей с IL-8 ($r = 0,66$, $p < 0,05$) и IL-6 ($r = 0,46$, $p < 0,0001$) иллюстрирует повышенный синтез NO при усилении воспаления. Нитритемия нарастала при использовании высоких концентраций кислорода при проведении оксигенотерапии ($r = 0,46$, $p < 0,0001$) и сопровождалась нарастанием уровней МСМ ($r = 0,43$, $p < 0,001$), vW ($r = 0,41$, $p < 0,001$) в остром и подостром периодах ($r = 0,62$, $p < 0,001$). Установлена взаимосвязь показателей нитритов со степенью тромбинемии ($r = 0,28$, $p < 0,05$) и интенсивностью фибринолиза (корреляции Д-димера и нитритов составили 0,30, $p < 0,01$).

Образование sVCAM-1 отражает состояние эндотелия и ассоциировано с его активацией и повреждением. Повышенные адгезионной функции эндотелия развились у 65,1% детей с РДС. У всех таких новорожденных уровни sVCAM-1 в 1—3-й и 5—8-й дни были выше, чем у детей группы сравнения ($3498,3 \pm 434,9$ и $2938,5 \pm 161,8$; $1991,4 \pm 434,9$ и $1509,4 \pm 376,8$ нг/мл соответственно, $p < 0,01$). В остром периоде содержание sVCAM 1 увеличивалось у детей с РДС I ($3255,7 \pm 308,3$ нг/мл) и РДС II и III ($3565,2 \pm 188,8$ нг/мл, $p < 0,01$) по отношению к группой сравнения. В подостром периоде значения составили у детей с РДС I $2859,2 \pm 285,7$ нг/мл, с РДС II и III — $2963,2 \pm 185,5$ нг/мл, что выше, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). Уровни sVCAM коррелируют с тяжестью РДС ($r = 0,42$, $p < 0,01$), общего состояния новорожденных ($r = 0,41$, $p < 0,001$), выраженностью отеочного синдрома ($r = 0,32$, $p < 0,05$) и одышки ($r = 0,45$, $p < 0,01$). Выявлена связь патологической адгезии с высокими уровнями РФМК ($r = 0,92$, $p < 0,001$), что иллюстрирует усугубление нарушенной гемостаза при циркуляции sVCAM.

Косвенным методом оценки выраженности ЭД может быть циркуляция в крови цитокинов. Уровни IL-6 были повышены у всех детей с РДС вне зависимости от его тяжести и составили $86,1 \pm 3,67$ пг/мл, в группе сравнения $48,2 \pm 0,24$ пг/мл, $p < 0,001$. Уровни IL-8 были повышены только у новорожденных с более тяжелыми вариантами РДС и соответствовали $159,1 \pm 29,6$ и $243,6 \pm 53,2$ пг/мл в сравнении с контролем $86,4 \pm 22,3$ пг/мл, $p < 0,05$, $p < 0,001$. У детей с легким, среднетяжелым и тяжелым РДС в первые дни высокие уровни IL-6 отмечены в 78,6%, 70,3%, 86,1% случаев, на 5—8 дни — 22,2%, 64,7%, 85,0% случаев соответственно. Высокие уровни IL-8 отмечены у 6,7% детей с легким РДС, среднетяжелым — 69,2%, тяжелым — 71,4% случаев. Выявлены корреляции уровней IL-6 и IL-8 с балльной оценкой неврологических ($r = 0,38$, $p < 0,0001$, $r = 0,39$, $p < 0,01$), респираторных ($r = 0,42$, $p < 0,0001$, $r = 0,33$, $p < 0,01$), гемостатических нарушений ($r = 0,29$, $p < 0,0001$, $r = 0,28$, $p < 0,05$). Повышение уровней МДА и IL-8 усиливает проницаемость эндотелия [8]. Взаимосвязи между уровнями IL-6, IL-8 и МДА ($r = 0,54$, $p < 0,05$ и $r = 0,53$, $p < 0,02$) иллюстрируют сочетанное нарастание у новорожденных цитокинемии и липопероксидации. У детей при цитокинемии снижались уровни антиоксидантов, корреляции между уровнями IL-8 и ЦП составили $r = -0,83$, $p < 0,05$, IL-6 и ЦП — $r = -0,73$, $p < 0,05$. Корреляции IL-8 с VEGF и нитритами ($r = -0,45$), IL-6 — с нитритами ($r = 0,46$) и VEGF ($r = -0,53$) подтверждают связь цитокинов с маркерами ЭД. Как видим,

иммунные нарушения являются признаками развития ЭД у новорожденных с РДС. Уровни IL-6 взаимосвязаны с параметрами ИВЛ (выявлены связи с пиковым давлением в конце выдоха РЕЕР — $r = 0,40$, $p < 0,05$) и ее длительностью ($r = 0,37$, $p < 0,05$). При анализе показателей отмечено достоверное повышение С4-комплемента у больных с легким и среднетяжелым РДС ($0,24 \pm 0,02$, $0,28 \pm 0,05$ г/л) в сравнении с группой контроля ($0,19 \pm 0,008$ г/л, $p < 0,05$). В остром периоде уровни СЗс повышены у новорожденных с легким, среднетяжелым и тяжелым РДС ($1,02 \pm 0,05$, $1,05 \pm 0,07$, $0,91 \pm 0,11$ г/л) в сравнении с контролем ($0,69 \pm 0,04$ г/л, $p < 0,01$). Итак, у детей с РДС высокие уровни цитокинов (IL-6, IL-8) сочетаются с экспрессией молекул адгезии и активацией системы комплемента.

Для выяснения значимости эндотелиальных расстройств в развитии РДС у новорожденных нами выполнен факторный анализ (ANOVA) и определена сила влияния по Н.А. Плехинскому. Значимый вклад в развитие РДС в первые дни жизни имели нитриты ($\eta^2 = 41,3\%$), sVCAM 1 ($\eta^2 = 23,7\%$), IL-8 ($\eta^2 = 19,8\%$), VEGF ($\eta^2 = 18,7\%$), vWF ($\eta^2 = 15,6\%$), IL-6 ($\eta^2 = 14,7\%$), СЗ ($\eta^2 = 6,0\%$). В динамике на 5—8-й день на первое место вышли vWF ($\eta^2 = 25,5\%$), нитриты ($\eta^2 = 22,4\%$), IL-6 ($\eta^2 = 19,8\%$), примерно на одном уровне остались sVCAM ($\eta^2 = 19,4\%$).

Молекулярные основы ЭД у недоношенных новорожденных заключаются в нарастании его тромбогенного потенциала в зависимости от тяжести РДС и степени перинатальных поражений ЦНС. Из данных литературы известно, что усиление СРО изменяет локализацию фосфатидилсерина и аннексинов на клеточных мембранах [9], антиоксиданты тормозят эти процессы [10]. Корреляционные связи показали усиление тромбогенных свойств эндотелия у детей с РДС при нарастании процессов СРО и снижении ЦП, что объясняется эффектом антиоксидантов, которые снижают эти свойства [11]. У детей с РДС прослеживалась отчетливая связь тромботической направленности нарушений гемостатической функции эндотелия с параметрами ИВЛ, развитием гипоксии и гипероксии.

У новорожденных отмечается системное снижение VEGF на фоне респираторных, метаболических и гемостатических расстройств. Снижение VEGF в крови у детей с РДС способствует апоптозу эндотелиоцитов, поскольку известно, что VEGF его замедляет [12]. Корреляционные связи уровней VEGF с тяжестью РДС, оценкой выраженности дыхательных расстройств и геморрагического синдрома свидетельствуют о сложных механизмах развития дисрегуляции функции эндотелия, которые у детей с РДС реализуются на фоне многочисленных патологических факторов. При тяжелых дыхательных расстройствах, усилении процессов СРО, ангиогенный потенциал эндотелия у новорожденных снижается (отрицательная связь). Корреляции иллюстрируют также снижение циркуляции VEGF на фоне цитокинемии, нитритемии и эндогенной интоксикации. Регуляция ангиогенеза и проницаемости сосудов осуществляется VEGF с участием NO [13]. Гипоксия стимулирует этот сигнальный путь [14], гипероксия — нарушает [15]. Однако у детей отмечено повышение NO и системное снижение VEGF, что является особенностью данного заболевания. Тромбин стимулирует локальную секрецию VEGF, который содержит сгустки фибрина [15] и связывается с ним на участках поврежденного эндотелия [16], способствует локальному усилению проницаемости эндотелия, что мы наблюдаем у детей с тяжелым РДС. Дефицит VEGF у детей с РДС является признаком не только эндотелиальной дисфункции, но и зрелости сурфактанта. Ранее показано, что ткани легких экспрессируют VEGF и его рецепторы, что обеспечивает развитие сурфактантно-альвеолярного комплекса, рост эпителия и сосудов легких, регуляцию их проницаемости [18, 19]. Итак, дефицит VEGF у детей с РДС является признаком эндотелиальной дисфункции и состояния сурфактантно-альвеолярного комплекса.

Состояние эндотелия взаимосвязано с NO, который образуется в респираторном тракте [20]. Роль NO достаточно хорошо изучена, однако между показателями выдыхаемого NO и уровнями в крови у детей при рождении корреляционной взаимосвязи не выявлено [21]. Помимо вазодилатирующего, NO оказывает противовоспалительный, антиадгезивный, антиагрегантный и антиоксидантный эффект, регулирует проницаемость сосудистой стенки [20], сосудистый и альвеолярный рост, являясь посредником клеточных ответов на ангиогенные факторы [22]. Нитрит, как биоактивный резервуар NO, регулирует цитопротекцию после ишемии—реперфузии [23]. Высокие уровни NO у новорожденных — защитный механизм при действии многочисленных патологических факторов. По-видимому, при РДС проявляется двойственная природа NO. Воздействие цитокинов, СРО, активация свертывания обеспечивают синтез большого количества NO через экспрессию iNO-синтазы, оказывает повреждающее действие, является признаком воспаления [24] и апоптоза [25]. Повышение нитритов, МДА и снижение ЦП у детей с РДС показывают, что нитритемия сопровождается усилением СРО. В эндотелиальных клетках СРО может быть инициировано воздействием воспалительных цитокинов, а также взаимодействием с эндотелием лейкоцитов. Связь между активными формами кислорода (АФК) и NO замыкает порочный круг, что приводит к дальнейшей активации эндотелия и воспалению [26]. Полученные данные свидетельствуют о взаимосвязи NO и гемостатических расстройств у недоношенных новорожденных (взаимосвязь показателей нитритов со степенью тромбоцитоза и интенсивностью фибринолиза) и объясняются данными литературы. Следует отметить, что повышение уровней Д-димера сопряжено с эндотелиальными механизмами регуляции фибринолиза и косвенно свидетельствует о стимуляции эндотелия. Известно, что высокие концентрации NO увеличивают экспрессию тканевого фактора, а тромбин способствует продукции NO макрофагами через iNOS [29]. При гипоксии и последующей реоксигенации экспрессия iNOS является компонентом эндотоксемии [31], что мы и наблюдаем у детей с РДС (уровни нитритов повышались при увеличении МСМ). Защитный механизм NO превращается в патологический, вызывая чрезмерную активацию фибринолиза, через антиагрегантный эффект на тромбоциты и повреждение эндотелия — склонность к геморрагиям. На этом этапе процесс становится неуправляемым и сопровождается манифестацией ДВС. Полученные связи, динамика изучаемых показателей и данные литературы позволили сделать предположение, что при рождении нитритемия обусловлена эндотелиальными изменениями, поскольку NO, связанный с eNOS, обладает вазопротективными свойствами. В последующем, при снижении запаса антиоксидантов и нарастании СРО, она является признаком воспаления и эндогенной интоксикации. На этом этапе усиливается свертывание, гипотония, что замыкает порочный круг эндотелиальных нарушений.

Регуляция процессов воспаления в сосудистой стенке нарушалась по мере нарастания клинических проявлений РДС. Увеличение уровней адгезивного белка vWF и sVCAM-1, цитокинов IL-6 и IL-8 изменяют статус эндотелия на прокоагулянтный и верифицирует наличие воспалительного компонента и в тоже время развитие адгезионной формы дисфункции эндотелия у недоношенных новорожденных с РДС. У детей цитокинемия сопровождается повышенной циркуляцией sVCAM, что указывает на повреждение клеток эндотелия, а выявленные корреляции иллюстрируют усугубление клинических проявлений РДС и нарушений гемостаза при циркуляции sVCAM. Выявлена связь патологической адгезии с высокими уровнями РФМК, что иллюстрирует усугубление нарушений гемостаза при циркуляции sVCAM. Экспрессия молекул адгезии увеличивает окислительный стресс в тканях [30], а вы-

сокие уровни цитокинов и СРО изменяют гемостатическое равновесие эндотелиальных ячеек, способствуя экспрессии тканевого фактора [27]. Активация комплемента на эндотелии вызывает изменения, которые способствуют коагуляции, тромбозу и воспалению. По-видимому, этот механизм имеет место у детей с РДС. Повышенная активность системы комплемента у них косвенно подтверждают высокую активность эндотелия сосудистой стенки.

Заключение. У детей нарушения регуляции функции эндотелия являются механизмом развития РДС, который зависит от его тяжести, реализуются на фоне респираторных расстройств, усиления интенсивности СРО и нарастания признаков эндогенной интоксикации. У детей с РДС нарушения регуляции функции эндотелия сопровождаются нарастанием гемостатических расстройств и характеризуются повышением тромбогенных и адгезивных свойств, снижением уровней VEGF, высоким содержанием оксида азота в форме нитритов, цитокинемией и активацией систем комплемента. Критериями выраженности дисфункции эндотелия сосудистой стенки у недоношенных новорожденных с РДС являются уровни фактора Виллебранда, метаболитов NO (нитритов), молекул адгезии клеток сосудов, сосудисто-эндотелиального фактора роста, интерлейкина-6 и интерлейкина-8.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 4—31 см. REFERENCES)

- Кузьменко Г.Н., Чемоданов В.В., Назаров С.Б. Клиническое значение нарушений регуляции функции эндотелия в развитии респираторного дистресс-синдрома у недоношенных. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2008; 87 (1): 3—9.
- Лакин Г.Ф. *Биометрия*. М.: Высшая школа; 1990.

Поступила 01.09.15

REFERENCES

- Rajendran P., Rengarajan T., Thangavel J., Nishigaki Y., Sakthisekaran D., Sethi G. et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int. J. Biol. Sci.* 2013; 9 (10): 1057—69.
- Kuz'menko G.N., Chemodanov V.V., Nazarov S.B. The clinical significance of disorders of regulation of endothelial function in the development of respiratory distress syndrome in premature infants. *Pediatrya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2008; 87 (1): 3—9. (in Russian)
- Lakin G.F. *Biometrics [Biometriya]*. Moscow: Vysshaya shkola; 1990. (in Russian)
- Vischer U.M. Von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *J. Thromb. Haemost.* 2006; 4 (6): 1186—93.
- Blann A., Lip G. Assessment of endothelial function using plasma markers. *Heart*. 1997; 78 (3): 321—2.
- Voelkel N.F., Vandivier R.W., Tuder R.M. Vascular endothelial growth factor in the lung. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2006; 290 (2): 209—21.
- Cauwels A. Nitric oxide in shock. *Kidney Int.* 2007; 72 (5): 557—65.
- Zhang Y., Gu Y., Li H., Lucas M.J., Wang Y. Increased endothelial monolayer permeability is induced by serum from women with preeclampsia but not by serum from women with normal pregnancy or that are not pregnant. *Hypertens. Pregnancy*. 2003; 22 (1): 99—108.
- Sacre S.M., Moss S.E., Sacre S.M., Moss S.E. Intracellular localization of endothelial cell annexins is differentially regulated by oxidative stress. *Exp. Cell. Res.* 2002; 274 (2): 254—63.
- Zamora R., Hidalgo F.J. Phosphatidylethanolamine modification by oxidative stress product 4,5(E)-epoxy-2(E)-heptenal. *Chem. Res. Toxicol.* 2003; 16 (12): 1632—41.
- Szotowski B., Antoniuk S., Goldin-Lang P., Tran Q.V., Pels K., Rosenthal P. et al. Antioxidative treatment inhibits the release of thrombogenic tissue factor from irradiation- and cytokine-induced endothelial cells. *Cardiovasc. Res.* 2007; 73 (4): 806—12.
- Koch S., Tugues S., Li X., Gualandi L., Claesson-Welsh L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Biochem. J.* 2011; 437 (2): 169—83.
- Kimura H., Esumi H. Reciprocal regulation between nitric oxide and

- vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta. Biochim. Pol.* 2003; 50 (1): 49—59.
14. Ergenekon E., Gücüyener K., Erbaş D., Aral S., Koç E., Atalay Y. et al. Cerebrospinal fluid and serum vascular endothelial growth factor and nitric oxide levels in newborns with hypoxic ischemic encephalopathy. *Brain Dev.* 2004; 26 (5): 283—6.
 15. Fujinaga H.L., Baker C.D., Ryan S.L., Markham N.E., Seedorf G.J., Balasubramaniam V. et al. Hyperoxia disrupts vascular endothelial growth factor-nitric oxide signaling and decreases growth of endothelial colony-forming cells from preterm infants. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2009; 297 (6): 1160—9.
 16. Tezono K., Sarker K., Kikuchi H., Nasu M., Kitajima I., Maruyama I. Bioactivity of the vascular endothelial growth factor trapped in fibrin clots: production of IL-6 and IL-8 in monocytes by fibrin clots. *Haemostasis.* 2001; 31 (2): 71—9.
 17. Sahni A., Francis C. Vascular endothelial growth factor binds to fibrinogen and fibrin and stimulates endothelial cell proliferation. *Blood.* 2000; 96 (12): 3772—8.
 18. Tuder R.M., Jeong H.Y. Vascular endothelial growth factor the lung: friend or foe. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2008; 8 (3): 255—60.
 19. Tsao P.N., Wei S.C., Chou H.C., Su Y.N., Chen C.Y., Hsieh F.J. et al. Vascular endothelial growth factor in preterm infants with respiratory distress syndrome. *Pediatr. Pulmonol.* 2005; 39 (5): 461—5.
 20. Jin R.C., Loscalzo J. Vascular Nitric Oxide: Formation and Function. *J. Blood. Med.* 2010; 2010 (1): 147—62.
 21. Biban P., Zangardi T., Baraldi E., Dussini N., Chiandetti L., Zaccchello F. Mixed exhaled nitric oxide and plasma nitrites and nitrates in newborn infants. *Life Sci. J.* 2001; 68 (25): 2789—97.
 22. Han R.N., Stewart D.J. Defective lung vascular development in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Trends. Cardiovasc. Med.* 2006; 16 (1): 29—34.
 23. Shiva S., Wang X., Ringwood L.A., Xu X., Yuditskaya S., Annavajhala V. et al. Ceruloplasmin is a NO oxidase and nitrite synthase that determines endocrine NO homeostasis. *Nat. Chem. Biol.* 2006; 2 (9): 486—93.
 24. Aktan F. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sci. J.* 2004; 75 (6): 639—53.
 25. Chatterjee A., Black S.M., Catravas J.D. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascul. Pharmacol.* 2008; 49 (4—6): 134—40.
 26. Deanfield J.E., Halcox J.P., Rabelink T.J. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007; 115 (10): 1285—95.
 27. Szotowski B., Antoniak S., Goldin-Lang P., Tran Q.V., Pels K., Rosenthal P. et al. Antioxidative treatment inhibits the release of thrombogenic tissue factor from irradiation- and cytokine-induced endothelial cells. *Cardiovasc. Res.* 2007; 73 (4): 806—12.
 28. Kibbe M.R., Johnnides C., Gleixner S., Kovessi I., Lizonova A., Zuckerbraun B. et al. Regulation of tissue factor expression in smooth muscle cells with nitric oxide. *J. Vasc. Surg.* 2003; 37 (3): 650—9.
 29. Kang K.W., Choi S.Y., Cho M.K., Lee C.H., Kim S.G. Thrombin induces nitric-oxide synthase via Galpha12/13-coupled protein kinase C-dependent I-kappaBalpha phosphorylation and JNK-mediated I-kappaBalpha degradation. *J. Biol. Chem.* 2003; 278 (19): 17368—78.
 30. Seal J.B., Gewertz B.L. Vascular dysfunction in ischemia-reperfusion injury. *Ann. Vasc. Surg.* 2005; 19 (4): 572—84.
 31. Lin H.I., Chou S.J., Wang D., Feng N.H., Feng E., Chen C.F. Reperfusion liver injury induces down-regulation of eNOS and up-regulation of iNOS in lung tissues. *Transplant. Proc.* 2006; 38 (7): 2203—6.

Received 01.09.15

ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.155.194.8-079.4

Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Матвеева И.И.

ОСНОВНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ ФЕРРОКИНЕТИКИ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, 115478, Москва

В работе представлены данные о клинической значимости интерлейкина 6, гепцидина-25 и его предшественника, прогепцидина, в дифференциальной диагностике анемического синдрома. Проведено обследование 192 сотрудников онкологического Центра, которые проходили ежегодную диспансеризацию. Представлены собственные референтные значения для иммуноферментных методов (интерлейкина 6, гепцидина-25, прогепцидина, растворимых рецепторов трансферрина, ферритина, эритропоэтина). Анализ полученных результатов показал, что значения интерлейкина 6, гепцидина-25, прогепцидина, могут быть использованы в качестве дополнительных диагностических критериев анемического синдрома, особенно, в дифференциальной диагностике анемии хронического заболевания в сочетании с железодефицитной анемией и анемии хронического заболевания с функциональным дефицитом железа. Проведенное исследование является новым перспективным направлением современной концепции метаболизма железа у пациентов с анемическим синдромом.

Ключевые слова: анемия; гипохромия эритроцитов; функциональный дефицит железа; гепцидин-25; прогепцидин; интерлейкин 6; растворимые рецепторы трансферрина; ферритин; эритропоэтин.

Для цитирования: Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Матвеева И.И. Основные метаболиты феррокинетики в дифференциальной диагностике анемического синдрома. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2016; 61 (4): 219-223. DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-4-219-223

Blindar V.N., Zubrikhina G.N., Matveeva I.I.

Для корреспонденции: Блиндарь Валентина Николаевна, доктор биол. наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ. E-mail: bld51@list.ru