

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.А. ВАГНЕРА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

Жданович Елена Анатольевна

**ВОЗРАСТНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ БИОМАРКЕРОВ ЛЕГОЧНОГО
ПОВРЕЖДЕНИЯ И РЕСПИРАТОРНОГО СОПРОТИВЛЕНИЯ У
ДЕТЕЙ С БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ**

14.01.08 –педиатрия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель: член-
корреспондент РАН, доктор
медицинских наук, профессор
Фурман Евгений Григорьевич

Пермь – 2016

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА I БИОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ, КЛИНИЧЕСКИЕ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ В КОМПЛЕКСНОМ ПРЕДСТАВЛЕНИИ О ТЕЧЕНИИ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	14
1.1. Распространенность бронхолегочной дисплазии (БЛД), факторы риска, особенности патогенеза, роль генетических полиморфизмов гена $\beta 2$ -адренорецептора	14
1.2. Клинические особенности течения и варианты исходов БЛД	21
1.3. Мониторинг легочного повреждения при БЛД	24
1.3.1. Лучевые методы в диагностике легочного повреждения при БЛД	24
1.3.2. Методы оценки функции внешнего дыхания у детей раннего возраста в диагностике легочного повреждения при БЛД	26
1.3.3. Роль биомаркеров в развитии легочного повреждения при БЛД	29
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	33
2.1. Объекты, объем и дизайн исследования	33
2.2. Методы исследования	36
2.2.1. Общеклинические методы	36
2.2.2. Лабораторное обследование	37
2.2.3. Инструментальные методы	38
2.2.4. Статистические методы	41
ГЛАВА III. КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕТЕЙ С БЛД И ГРУПП СРАВНЕНИЯ	42
3.1. Характеристика группы детей с БЛД	42
3.2. Характеристика 1 группы сравнения по частоте встречаемости полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2	48

3.3. Характеристика 2 группы сравнения по биомаркерам легочного повреждения и респираторному сопротивлению	49
ГЛАВА IV. ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА β2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА И ВОЗРАСТНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ РЕСПИРАТОРНОГО СОПРОТИВЛЕНИЯ И БРОНХИАЛЬНОЙ ЛАБИЛЬНОСТИ У ДЕТЕЙ С БЛД	50
4.1. Возрастная эволюция респираторного сопротивления и бронхиальной лабильности у детей с БЛД	50
4.2. Частота встречаемости полиморфизмов Arg16Gly, Gln27Glu гена β 2-адренорецептора у детей с БЛД и их влияние на респираторное сопротивление, ответ на бронхолитик и течение заболевания	57
ГЛАВА V. ЭВОЛЮЦИЯ БИОМАРКЕРОВ ЛЕГОЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ У ДЕТЕЙ С БЛД	65
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	82
ВЫВОДЫ	90
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	91
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	92
ПРИЛОЖЕНИЕ	106

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- БА – бронхиальная астма
- БГР - бронхиальная гиперреактивность
- БЛД – бронхолегочная дисплазия
- ВЖК – внутрижелудочковое кровоизлияние
- ВПГ – вирус простого герпеса
- ВРКТ - высокоразрешающая компьютерная томография
- ГВ – гестационный возраст
- ДН - дыхательная недостаточность
- ДЦП - детский церебральный паралич
- ИВЛ – искусственная вентиляция легких
- ИЛ – интерлейкин
- м-РНК – матричная (информационная) РНК
- ОАГА – осложненный акушерско-гинекологический анамнез
- ОАП – открытый артериальный проток
- ОНМТ – очень низкая масса тела
- ООО – открытое овальное окно
- ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии
- ПКВ – постконцептуальный возраст
- ПП ЦНС - перинатальное поражение центральной нервной системы
- РДС – респираторный дистресс-синдром
- РСВ - респираторно-синцитиальный вирус
- СВ – скоррегированный возраст
- ФВД – функция внешнего дыхания
- ФСД - флоуметрия спокойного дыхания
- ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких
- ЦМВ - цитомегаловирус

ЦНС – центральная нервная система

ЭНМТ – экстремально низкая масса тела

ADRB2 – ген β 2-адренорецептора

Arg16Gly – замена аргинина на глицин в 16 положении

CPAP – Continuous Positive Airway Pressure (ИВЛ в режиме постоянного положительного давления в дыхательных путях)

FiO₂ – fraction of inspired oxygen - фракция кислорода во вдыхаемой смеси

FRC - Functional Residual Capacity (функциональная остаточная емкость легких)

Gln27Glu – замена глутамина на глутаминовую кислоту в 27 положении

GWAS – genome-wide association study (общегеномное исследование ассоциаций)

INSURE – техника Intubate - Surfactant - Extubate to CPAP (Интубация – Сурфактант - Экстубация с переводом на CPAP)

MMP – металлопротеиназа (metalloproteinase)

MOT – multy occlusion technique (метод множественных окклюзий)

NCPAP - Continuous Positive Airway Pressure (ИВЛ в режиме постоянного положительного давления в дыхательных путях через носовые катетеры)

NICHD/NHLBI/ORD - National Institute of Child Health and Human Development/National Heart, Lung and Blood Institute/Office of Rare Diseases

SNP – single-nucleotide polymorphism (одинокый нуклеотидный полиморфизм)

SOT – single occlusion technique (метод одиночной окклюзии)

SP – Surfactant Protein (белок сурфактанта)

Thr164Ile – замена треонина на изолейцин в 164 положении

TLC – Total Lung Capacity (общая емкость легких)

tPTEF%tE – относительное время пикового потока на выдохе

RTC – rapid thoracoabdominal compression (метод торакоабдоминальных компрессий)

RV – Residual Volume (остаточный объем легких)

V'_{\max} FRC – максимальный форсированный поток выдоха

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Более 10% детей по всему миру рождаются преждевременно, что является серьезной медико-социальной проблемой и влияет на качество жизни семьи. Каждый год в мире от осложнений, связанных с преждевременными родами, умирает более 1 миллиона недоношенных детей. Недоношенность является основной причиной смертности среди новорожденных и в настоящее время составляет вторую по распространенности, после пневмонии, причину смертности среди детей в возрасте до пяти лет [37]. Согласно данным Vlencowe H. и соавт. от 2012 года в большинстве стран, по которым доступна статистика, наблюдается рост недоношенности [60], которая в свою очередь является одним из основных предрасполагающих факторов развития бронхолегочной дисплазии (БЛД) [63].

Дети с разным сроком гестации, разной массой тела при рождении могут сформировать БЛД. Именно комбинация предрасполагающих факторов играет решающую роль в реализации БЛД: степень недоношенности, определяющая глубину незавершенности процессов альвеологенеза и ангиогенеза, персистирующий воспалительный процесс, жесткие параметры и продолжительная респираторная поддержка, высокий процент кислорода во вдыхаемой смеси, набор генетических полиморфизмов [63].

В процессе ведения таких больных необходимо понимать, как меняются показатели вентиляционной функции органов дыхания и степень легочного повреждения по мере роста и созревания респираторных структур и сосудов. Учитывать, что определенный вес в фенотипическом проявлении заболевания может иметь исходная генетическая составляющая, реализующаяся в результате эпигенетического взаимодействия - массивного воздействия внешних лечебных факторов.

Поддерживаемое хроническое воспаление легочной ткани при БЛД, а также недоразвитие альвеол и сосудистого русла приводит к активному синтезу огромного числа биомолекул [59]. По данным Vento G. и соавт. среди белковых

компонентов альвеолярной жидкости, анализируемой у недоношенных детей с БЛД и без данной патологии, в образцах преждевременно рожденных с БЛД были обнаружены фрагменты металлопротеиназы-3 (ММР3) [130]. В легких ММР3 секретируется внеклеточно эпителиальными клетками, альвеолярными макрофагами, фибробластами, а также эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудов. ММР3 играет важную роль в естественных процессах тканевого ремоделирования и патологических процессах в легких, катализируя деградацию многих компонентов соединительной ткани [72,136,67,35]. Известно, что фактор некроза опухоли- α (ФНО- α) и интерлейкин- 1β (ИЛ- 1β) являются двумя мощными индукторами синтеза металлопротеиназ (ММРs), в то время как интерферон- γ (ИФН- γ) и интерлейкины -4 и -10 (ИЛ-4, ИЛ-10) могут подавлять синтез ММРs [106,110]. Рядом исследователей установлена взаимосвязь между повышением в крови концентраций ИЛ- 1β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и развитием БЛД [50,30]. Koksal N. и соавт. в своем исследовании сообщили о пониженном уровне ИЛ-10 и повышенном уровне ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ- 1β , как в сыворотке крови, так и в образцах аспирата из трахеи, у детей в последующем развивших БЛД [89]. Таким образом, в большинстве исследований изучается роль интерлейкинов и ММРs, как предикторов формирования или тяжести БЛД. В то время как данных о возрастной эволюции про- и противовоспалительных интерлейкинов во взаимосвязи с непрямым маркером фиброза - ММР3 у детей с данной патологией мы не нашли. На наш взгляд, интерес могут представлять соотношения показателей про- и противовоспалительных интерлейкинов, влияющих на синтез ММРs, поэтому мы остановились на комплексе биомаркеров легочного повреждения, включающем ИЛ- 1β , ИЛ-4, ИЛ-10, ММР3.

Известно, что бронхоспазм и гиперсекреция слизи лежат в основе бронхообструктивного синдрома, играющего важную роль в клинической картине периодов обострений БЛД [25]. В свою очередь, возникновение бронхоспазма и гиперсекреции слизи может быть связано с неадекватной функцией β 2-адренорецептора - трансмембранного белка гладкомышечных клеток бронхов, нейтрофилов, эозинофилов и макрофагов. Полиморфизмы кодирующего гена β 2-адренорецептора могут вносить вклад в развитие бронхообструкции в результате

изменения структуры (замена аминокислоты) и физико-химических свойств белка-рецептора.

Присутствие β 2-адренорецепторов на всех уровнях респираторного тракта было доказано с помощью радиографического картирования. Известно, что плотность β 2-адренорецепторов в легких увеличивается по мере уменьшения диаметра бронхов [22]. До настоящего времени остается открытым вопрос о влиянии β 2-агонистов на секрецию медиаторов и цитокинов.

Также известно, что при избыточной стимуляции β 2-адренорецепторов их чувствительность снижается, в то время как стероиды повышают экспрессию β 2-адренорецепторов за счет усиления генной транскрипции, поэтому терапия малыми дозами стероидов может предотвратить дисрегуляцию β 2-адренорецепторов, наступающую в результате постоянного применения β 2-агонистов. Последние годы большое внимание уделяется генетическому полиморфизму β 2-адренорецептора. Определена прогностическая и терапевтическая значимость возможных полиморфизмов β 2-адренорецептора у больных бронхиальной астмой (БА) и хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) [128,82]. В литературных данных значения и частоты встречаемости замены аминокислоты аргинина на глицин в 16 положении (Arg16Gly) и глутамина на глутаминовую кислоту в 27 положении (Gln27Glu) гена β 2-адренорецептора (ADRB2) у детей с БЛД мы не нашли, что и явилось предметом нашего изучения.

Существующие в настоящее время методы оценки вентиляционной функции у детей раннего возраста сложны в применении и имеют ограничения в реальной клинической практике [7,66,27]. Поэтому необходим простой, информативный, скрининговый метод, позволяющий объективно подойти к оценке состояния ФВД и выявлению повышенной реактивности бронхов у детей с БЛД, что может помочь в обоснованном назначении ингаляционных стероидов и бронхолитиков. На наш взгляд, таким методом может служить методика измерения респираторного сопротивления путем прерывания воздушного потока (Rint) и бронхолитическая проба (Rint Post). Данная методика не требует

дорогостоящего оборудования, специально обученного персонала, кооперации с пациентом и легко интерпретируется.

Таким образом, многофакторность этиопатогенеза БЛД диктует нам необходимость учитывать весь комплекс составляющих этого заболевания: особенности клинической картины, состояние вентиляционной функции легких, выраженность процессов воспаления и фиброза, влияние генетических полиморфизмов на функцию β 2-адренорецептора, определяющего контрактильность дыхательных путей. Комплексное изучение отдельных составляющих, может дать целостное представление о течении заболевания и персонализировать терапию.

Целью нашего исследования явилось изучение показателей ряда биомаркеров легочного повреждения и респираторного сопротивления с ответом на бронхолитик у детей с БЛД в разных возрастных группах во взаимосвязи с наличием полиморфизмов гена β 2-адренорецептора и клиническими особенностями течения заболевания.

Задачи исследования

1. Сравнить частоту встречаемости полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu гена β 2-адренорецептора (ADRB2) у детей с БЛД и у здоровых детей.
2. Определить респираторное сопротивление (Rint) и ответ на бронхолитик (Rint Post) у детей с БЛД в разные возрастные периоды.
3. Установить показатели ряда биомаркеров: ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10 и непрямого маркера фиброза – металлопротеиназы 3 у детей с БЛД в разные возрастные периоды.
4. Определить взаимосвязь между клиническими особенностями течения БЛД, респираторным сопротивлением, ответом на бронхолитик и наличием полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2.

Научная новизна

Впервые изучена частота встречаемости полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 у детей с БЛД и у здоровых детей.

Впервые определено респираторное сопротивление методом Rint и показатель Rint Post (после ингаляции бронхолитика) у недоношенных детей с БЛД в разные возрастные периоды.

Изучены уровни провоспалительного интерлейкина-1 β , противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) и непрямого маркера фиброза – металлопротеиназы 3 (ММР3) в разные возрастные периоды.

Теоретическая значимость

Охарактеризовали влияние полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 на состояние вентиляционной функции легких у детей с БЛД.

Установили неоднородность показателей ИЛ-10 и ММР3 в разные возрастные периоды у недоношенных детей с БЛД, что может отражать активность воспаления и процессов ремоделирования при БЛД.

Практическая значимость

Предложен метод оценки вентиляционной функции при БЛД – путем определения респираторного сопротивления с помощью техники Rint. Данный подход может применяться в качестве скринингового метода первой линии для оценки функции внешнего дыхания в раннем детском возрасте у недоношенных детей с БЛД. Определено пограничное значение респираторного сопротивления методом Rint, которое может указывать на патологию.

Установлена неоднородность уровней биомаркеров при БЛД, которая характеризует активность воспаления, процессов ремоделирования и особенности течения этого заболевания. Установлено, что повышенный уровень ИЛ-10 в 10 и более раз, совместно с повышенным значением ММР3 являются маркерами неблагоприятного течения БЛД. Это необходимо учитывать при коррекции терапии.

Выявление полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 у пациентов с БЛД может быть ассоциировано с рефрактерностью к бронхолитической терапии.

Положения, выносимые на защиту

1. Полиморфизм Gln27Glu гена β 2-адренорецептора встречается у недоношенных с БЛД в 3 раза чаще, чем у здоровых детей, причем всегда в сочетании с Arg16Gly в обеих группах.
2. Сопротивление дыхательных путей в группе детей с БЛД снижается с возрастом ребенка, при этом сохраняется повышенная реактивность бронхов.
3. Отмечается неоднородность показателей ИЛ-10 и непрямого маркера фиброза (MMP3) у недоношенных детей с БЛД в разные возрастные периоды.
4. Полиморфизмы Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 ассоциируются с особенностями течения БЛД и могут влиять на восприимчивость β 2-адренорецептора к β 2-агонистам.

Апробация результатов

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на XIV и XV Российских конгрессах «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 2015, 2016), Российском конгрессе «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии в Приволжском Федеральном округе» (Казань, 2016), Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы заболеваний органов дыхания у детей и подростков» (Ярославль, 2015), постерной сессии международного конгресса Европейского Респираторного Общества (Амстердам, 2015), научно-практической конференции «Избранные вопросы педиатрии» (Пермь, 2015).

Публикации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 8 работ, в том числе 4 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, среди них 2 публикации в изданиях, индексируемых в базе Scopus.

Внедрение в практику

Полученные результаты диссертационного исследования используются в отделении пульмонологии Краевой детской клинической больницы города Перми, в отделении недоношенных ГБУЗ ПК «ДКБ №13» г. Перми.

Полученные данные о БЛД недоношенных применяются в образовательном процессе на кафедре факультетской педиатрии ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 106 страницах машинописного текста и состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических рекомендаций.

Работа содержит 22 рисунка, 15 таблиц, 2 клинических примера, 1 приложение. Библиографический список содержит 136 источников, из них 48 отечественных и 88 зарубежных авторов.

ГЛАВА I

БИОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ, КЛИНИЧЕСКИЕ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ В КОМПЛЕКСНОМ ПРЕДСТАВЛЕНИИ О ТЕЧЕНИИ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Распространенность бронхолегочной дисплазии (БЛД), факторы риска, особенности патогенеза, роль генетических полиморфизмов гена $\beta 2$ -адренорецептора.

Бронхолегочная дисплазия занимает первое место среди хронической патологии легких раннего детского возраста [10]. По данным исследования, проведенного в 2003 году учеными в 37 перинатальных центрах Японии, включавшего 2145 детей с ОНМТ, 56% пациентов потребовалась интубация и искусственная вентиляция легких (ИВЛ) после рождения, а 90% - кислородотерапия, в 28-33% случаев дети развили БЛД [92]. По данным ученых Thomas W. и Speer С.О., среди 8059 преждевременно родившихся детей с гестационным сроком менее 32 недель, доля детей, получавших кислород после 28 недель жизни, составила 29% [124].

В России не существует единых, точных данных о частоте БЛД, разброс цифр по частоте развития БЛД характерен для отдельных регионов нашей страны. В исследовании Голобородько М.М. показатель распространенности БЛД среди детей Санкт-Петербурга и Ленинградской области составил 0,13%; примерно 20% детей, имевших респираторную поддержку в неонатальном периоде, сформировали БЛД [15]. По данным Овсянникова Д.Ю., среди 2077 недоношенных, находившихся в ОРИТ ГБ№8 (Москва), диагноз БЛД был установлен у 21,1% детей [24]. В Челябинске среди 1750 детей, находившихся на ИВЛ, БЛД сформировали 2,3% [38]. В 2015 году в Пермском крае диагноз БЛД был установлен у 21% недоношенных детей [31].

Несмотря на различия, прослеживается обратно пропорциональная зависимость частоты формирования БЛД с гестационным возрастом и массой при рождении [55,51].

При анализе генетических данных детей из двоен наблюдалась некая однородность в частоте развития БЛД, особенно у однояйцовых близнецов [56]. Это натолкнуло многих ученых заняться изучением генетических факторов риска, возможно, предрасполагающих к возникновению данной патологии.

В настоящее время все факторы риска реализации БЛД можно разделить на 4 основные группы: 1 - наличие инфекционного процесса (пренатального – хориоамнионит и постнатального: сепсис, внутриутробная пневмония и т.д.), 2 - незрелость всех систем органов, в том числе и бронхолегочной, 3 - факторы внешнего воздействия (баро- и волюмотравма в результате респираторной поддержки, оксигенотерапия, несовершенная термозащита, объем инфузионной терапии, несоответствие калорийности питания повышенным энергозатратам), см. рисунок 1.1 [79,118,81,28].

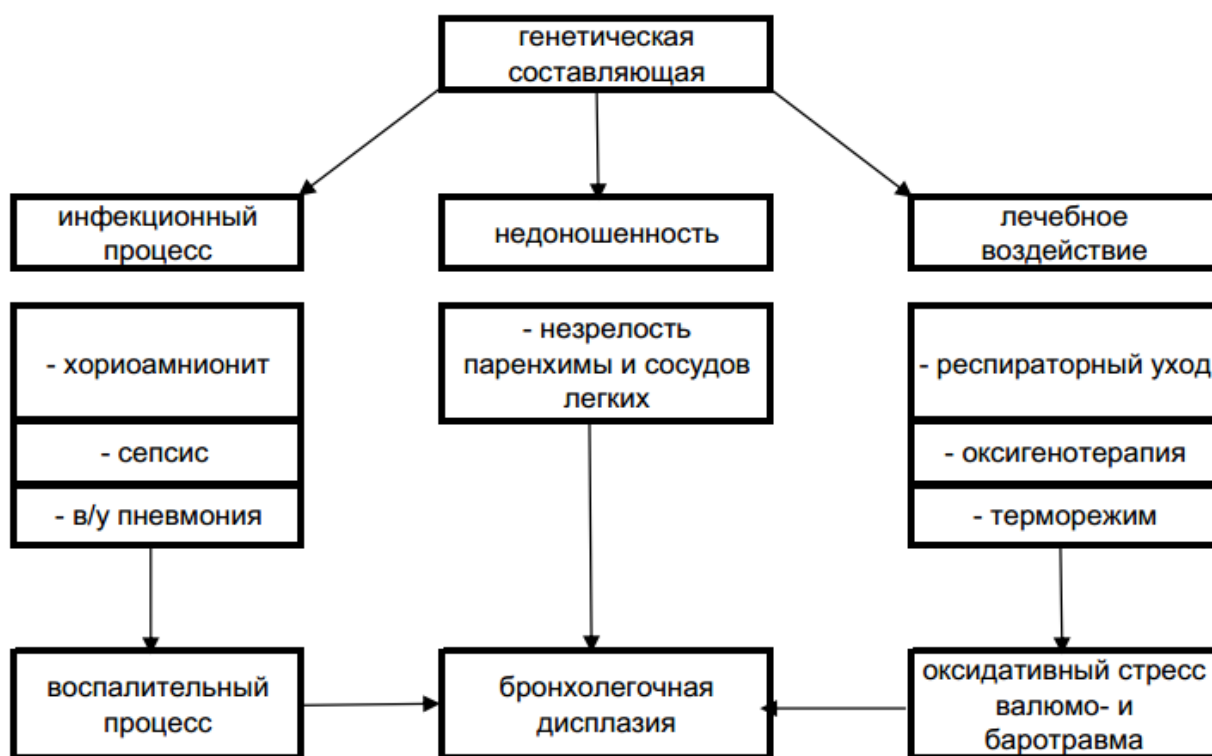


Рисунок 1.1 Факторы риска реализации БЛД

Отдельно стоит выделить 4 группу факторов - генетическую составляющую, которая может влиять на каждую из вышеперечисленных групп, см. схему 1.1. Генетические нарушения могут предопределять выраженность воспалительного ответа, активацию защитных механизмов, возникающих в ответ на агрессивность лечебных манипуляций. В настоящее время активно изучается роль наследственности, как риска формирования БЛД [10,117,14].

Персистирующий инфекционно-воспалительный процесс способен влиять, как на формирование БЛД, так и на возможность преждевременных родов [54,88,120,74]. Установлено, что воспалительные и инфекционные поражения плаценты определяют ее недостаточность, которая в свою очередь, является основной причиной внутриутробной гипоксии плода, асфиксии в родах, с развитием РДС разной степени тяжести. По данным Speer С.Р. хориоамнионит был диагностирован у половины женщин, преждевременно родивших детей с очень низкой массой тела (ОНМТ) и у 80% женщин, имевших младенцев с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) [120]. По мнению ряда исследователей, наличие в дыхательных путях преждевременно родившихся детей цитомегаловируса (ЦМВ), вируса простого герпеса (ВПГ), *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* и других возбудителей повышает риск формирования БЛД, а в дальнейшем в значительной степени способствует прогрессированию БЛД [115,114,95].

Большую роль в реализации инфекционного процесса играет социально-экономический уровень жизни, низкий образовательный уровень матерей, наличие делинквентных заболеваний (алкоголизм, наркомания). Все вышеперечисленное приводит к наличию хронической персистирующей инфекции разной локализации у женщин, в том числе и урогенитального тракта, что в дальнейшем приводит к инфицированию околоплодных вод, при аспирации которых возможно развитие внутриутробной пневмонии у преждевременно рожденных детей [13,11,3].

Незрелость всех систем и органов у преждевременно родившегося ребенка является ведущим предрасполагающим фактором, в результате чего формируется патология разных систем органов, в том числе и дыхательной системы. Известно,

что реализация летального исхода недоношенных детей связана с респираторными нарушениями, так как именно дыхательная система с момента рождения ребенка переходит в новые условия функционирования.

Во внутриутробном развитии легких условно выделяют 5 стадий: эмбриональную, псевдоглангулярную, каналикулярную, саккулярную и альвеолярную [5]. Недоношенные дети, в последующем развивающие БЛД, рождаются в конце каналикулярной или в начале саккулярной стадии развития легких [85]. Известно, что во время каналикулярной стадии (16-26 неделя внутриутробной жизни) терминальные бронхиолы делятся на 7 конечных генераций респираторного отдела и начинается дифференцировка альвеолоцитов 2 типа. В саккулярную стадию (24–36 недели гестации) элементы ацинуса у новорожденных представляют собой характерные мешочки, в которых за счет образования вторичных септ начинают образовываться альвеолы и альвеолярные ходы, альвеолоцитами II-го типа синтезируется сурфактант, состоящий преимущественно из фосфолипидов (85%) и небольшого количества (10%) белков сурфактанта (SP- surfactant protein): SP-A, -B, -C, -D [1,65,40]. Альвеолярная стадия характеризуется образованием основной массы альвеолярных ходов и альвеол за счет септации и продолжается до 8-летнего возраста. С наступлением преждевременных родов, запрограммированное развитие легочной ткани нарушается [54]. Кроме этого легочный интерстиций плода до 20 недели не готов к обеспечению диффузии газов, так как внутриацинарные легочные сосуды начинают развиваться лишь в позднем фетальном периоде и продолжают расти на 1 году жизни вдоль респираторных путей и альвеол, которые служат лекалом для этих сосудов [116]. Несмотря на то, что при недоразвитии легких, уменьшается число обычных и добавочных артерий, идущих к дыхательным путям, De Raere М.Е. и соавт. в своем исследовании говорят о больших регенераторных способностях легочных микрососудов на основании изучения морфологических препаратов преждевременно рожденных [68].

Таким образом, незрелость альвеолярно-капиллярного барьера и альвеол, наряду с дефицитом сурфактанта являются ведущими патогенетическими звеньями в развитии БЛД, к которым присоединяются стойкое воспаление,

индуцированное воздействием факторов лечебных манипуляций (инвазивная вентиляция и гипо-/гипероксия), и генетическая предрасположенность.

В последние годы был достигнут значительный прогресс по минимизации постнатальных факторов, связанных с лечебным воздействием, предрасполагающих к формированию БЛД: баро- и волюмотравмы. Именно адекватная первичная и реанимационная помощь, включающая респираторную терапию в рамках концепции «защиты легких», а также заместительную терапию сурфактантом, имеет большое значение для жизни недоношенных детей в дальнейшем [36,12,41]. Кроме того, профилактика гипотермии уменьшает риск развития и степень тяжести РДС [32]. При раннем начале проведения СРАР отмечены более низкие показатели смертности и частоты развития БЛД [42,121,113,23,83,122].

Помимо деструктивного влияния давления и объема [134,86], повреждающее воздействие на незрелую легочную ткань имеет длительная кислородотерапия и высокая концентрация кислорода во вдыхаемой смеси. Вопрос о дозе и продолжительности кислородотерапии в перинатальном периоде по-прежнему вызывает дискуссии. Vogel E.R. и соавторы подробно описали, что оба влияния (гипо- и гипероксия) способны привести к утолщению альвеолярно-капиллярного барьера, недоразвитию сосудистой сети и к ремоделированию и гиперреактивности бронхов [132]. Воздействие кислорода на незрелые легкие реализуется за счет следующих ключевых механизмов: образования активных форм кислорода (АФК), окислительного стресса, изменения клеточной пролиферации и апоптоза (через регуляцию факторов транскрипции), а также за счет усиления продукции нейтрофилами эластаз и протеаз [80,97,49,2]. Несмотря на множество негативных эффектов, дополнительный кислород остается важным и необходимым методом лечения недоношенных детей [21].

Учитывая ведущие патогенетические факторы, выделяют две формы БЛД недоношенных: классическую и «новую». В основе классической формы БЛД лежит воздействие на незрелые легкие кислорода, давления, объема при проведении ИВЛ с жесткими параметрами, ведущее к системной воспалительной реакции, поражению дыхательных путей, фиброзу и эмфиземе. Поэтому при

классической форме БЛД ацинус перерастяннут или атрофирован. В основе «новой» формы БЛД лежит недоношенность - незрелость альвеол (отсутствие септальных гребней в мешочках) и сосудов малого круга кровообращения, так как большинство детей с «новой» формой БЛД рождаются до или во время саккулярной стадии внутриутробного развития легких. При «новой» форме БЛД определяется меньшее количество альвеол с истонченными септами или без таковых, фиброз выражен минимально [21].

С точки зрения генетики, БЛД является типичным многофакторным заболеванием. Роль наследственности, как фактора риска формирования БЛД, изучается в исследованиях, связанных с семейной агрегацией, с выявлением генов-кандидатов, применяется общегеномное исследование ассоциаций (GWAS - genome-wide association study), изучение животных моделей, близнецовый метод [10,117,93,9,109]. За прошедшее время выявлены потенциально ответственные за формирование БЛД патофизиологические пути и, соответственно им, гены-кандидаты, которые могут рассматриваться в качестве предикторов риска развития БЛД. Нарушение нуклеотидной последовательности (SNP – single-nucleotide polymorphism) в генах-предикторах приводит к продукции дефектных белков, участвующих в процессах альвеолизации, ангиогенеза, апоптоза, антиоксидантной защиты, а так же белков сурфактанта, иммунного ответа и протеолиза [98,107,105,78,45,26,91,127,61,53]. Полученные на настоящий момент данные генетики относительно формирования БЛД не позволяют утверждать о весомом вкладе какого-либо одного или нескольких из исследованных генов. На наш взгляд, актуальными могут быть исследования тех генов, продукты которых могут влиять на котрактильность респираторного тракта. В этой связи изучение полиморфизмов гена β 2-адренорецептора (ADRB2) открывает возможности персонализированного подхода к терапии [6,102].

Известно, что важную роль в клинической картине периодов обострений БЛД играет бронхообструктивный синдром [25], в основе которого лежит бронхоспазм и гиперсекреция слизи, что может быть связано с неадекватной функцией β 2-адренорецептора – белка, локализованного в мембране гладкомышечных клеток бронхов, нейтрофилов, эозинофилов и макрофагов.

Стимуляция этого рецептора циркулирующими катехоламинами и β 2-адреномиметиками приводит к дилатации бронхов за счет активации аденилатциклазной системы, поэтому мутации кодирующего его гена могут вносить вклад в развитие бронхообструкции и/или влиять на терапию β 2-агонистами [125,46].

В кодирующей части гена *ADRB2*, расположенного на хромосоме 5q31, выявлены 9 полиморфизмов, 3 из которых (*Arg16Gly*, *Gln27Glu*, *Thr164Ile*) изменяют функцию рецептора и ассоциированы с астматическим фенотипом, хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и эффективностью терапии β 2-адреномиметиками [33,4]. По данным Асанова А.Ю. и соавт. у больных бронхиальной астмой (БА), гомозиготных по *Gly16*, выше риск развития более тяжелой глюкокортикоид-зависимой формы заболевания, при этом *Gly16*-форма рецептора существенно быстрее деградирует при действии β -адреномиметиков по сравнению с *Arg16* и ассоциирована с ночной БА и бронхиальной гиперреактивностью (БГР). Именно поэтому полагают, что больные БА, получающие терапию препаратами этой группы, быстро становятся нечувствительными к β -адреномиметикам и нуждаются в лечении ингаляционными стероидами [4]. Сходные данные получены и для *Glu27* — эта форма рецептора более устойчива к действию β -адреномиметиков, поэтому больные БА, гомозиготные по *Glu27*, отличаются пониженной чувствительностью дыхательных путей к метахолину [4,34]. Замена *Thr164Ile* чаще наблюдается при ХОБЛ, чем при БА. По результатам исследования Copenhagen General Population Study, генотип *Thr164/Ile164* ассоциирован со сниженной легочной функцией и повышенным риском развития ХОБЛ в общей популяции [125].

Следует отметить, что частота встречаемости полиморфизмов *Arg16Gly*, *Gln27Glu* гена *ADRB2* у больных БА и здоровых индивидов по данным литературы существенно не отличаются, кроме того, у здоровых лиц с фенотипами *Gly16* и *Glu27* легочная функция нормальна [4]. Однако, по данным Naumov D. с соавт. полиморфизм гена *ADRB2* может ассоциироваться с более низкой эффективностью терапии БА и у части больных ассоциироваться с холодной гиперреактивностью [102].

На настоящий момент нет данных о влиянии полиморфизмов Arg16Gly, Gln27Glu гена ADRB2 на фенотипические проявления при БЛД и ответ β 2-адренорецептора на бронхолитик, что требует дальнейшего изучения.

1.2 Клинические особенности течения и варианты исходов БЛД.

Bancalari E. и соавт. в 2003 году были первыми, кто предложил определение БЛД, основанное на клинических характеристиках, включая потребность в кислороде на 28 сутки жизни, с учетом соответствующих изменений на рентгенограмме органов грудной клетки [55]. Согласно национальной научно-практической программе по БЛД выделяют форму, степень тяжести, период заболевания [21]:

- ▶ по форме (новая, старая/ классическая - см. таблицу 1.1) и доношенных
- ▶ по тяжести (легкая, средней тяжести, тяжелая)
- ▶ по периоду болезни (обострение, ремиссия)

Таблица 1.1

Критерии определения классической и новой форм БЛД

новая форма (постсурфактантная)	старая форма (классическая)/доношенных
<ul style="list-style-type: none"> • гестационный возраст менее 32 недель, • применялись препараты сурфактанта • щадящая респираторная поддержка (СРАР), даже отсутствие ИВЛ • рентгенологически - гомогенное затемнение легочной ткани без ее вздутия 	<ul style="list-style-type: none"> • любой гестационный возраст • не использовали препараты сурфактанта • жесткие режимы ИВЛ • рентгенологически - вздутие легких, фиброз, буллы

Степень тяжести определяется на основании состояния кислородозависимости в ПКВ 36 недель для детей, родившихся до 32-й недели гестации и в период от 28 до 56 дней жизни, либо к моменту выписки из

больницы - для детей со сроком гестации 32 недели и более. При этом учитывается концентрация кислорода во вдыхаемой смеси - FiO_2 (см. таблицу 1.2) и/или респираторная поддержка. Оценке также подлежат анамнестические данные, клинические и рентгенологические критерии тяжести, сопоставимые у детей до 1 года.

Таблица 1.2

Критерии определения степени тяжести БЛД в зависимости от FiO_2

Легкая	Средняя	Тяжелая
$FiO_2 = 21\%$ (комнатный воздух)	$FiO_2 = 22-29\%$ (кислородная маска)	$FiO_2 \geq 30\%$ и/или СРАР/ИВЛ

Периоды обострений могут протекать по типу пневмонии, бронхообструктивного синдрома или бронхиолита, при этом определяется степень тяжести обострения.

Отдельно выделены осложнения БЛД: хроническая дыхательная недостаточность, острая дыхательная недостаточность на фоне хронической, ателектаз, легочная гипертензия, легочное сердце, системная артериальная гипертензия, недостаточность кровообращения, гипотрофия, анемия, требующая гемотрансфузий.

Диагноз БЛД правомочен в возрасте до 3 лет, затем указывается, как имевший место в анамнезе и/или его исход.

На сегодняшний день классические проявления, описанные Northway в 1967 году, наблюдаются редко [103]. У многих недоношенных, получивших антенатальную терапию стероидами и постнатальную терапию сурфактантом, первоначально наблюдается минимальная или умеренная дыхательная недостаточность (ДН). Такие дети чаще нуждаются в ИВЛ с низким давлением на вдохе и в низкой концентрации кислорода для лечения РДС легкой степени, внутриутробной пневмонии, апноэ. Современные недоношенные, переживая «светлый промежуток», фактически за несколько дней после рождения, удовлетворительно переносят снижение концентрации кислорода до содержания его в атмосферном воздухе [55]. В дальнейшем, спустя несколько недель или

дней, наблюдаются признаки нарастающей ДН, требующей увеличения потребности в кислороде и увеличения параметров ИВЛ. Что довольно часто связано с присоединением бактериальной инфекции и/или функционированием гемодинамически значимого открытого артериального протока (ОАП). К этому времени воспалительный процесс в легких переходит в хроническую стадию, что подтверждается рентгенологически [120]. В результате легочного повреждения эти дети нуждаются в длительной (недели и даже месяцы) ИВЛ и дополнительной подаче кислорода. Положительная динамика в клиническом состоянии происходит в очень медленном темпе, с постепенным «отлучением» от ИВЛ, а затем - от использования дополнительной кислородотерапии. После экстубации такие дети могут сохранять тахипноэ, вздутие грудной клетки, раздувание ноздрей, свистящее дыхание, эпизоды тяжелого цианоза и ретракцию грудной стенки. В результате повреждения дыхательных путей и гиперсекреции слизи возможны обструкции с рентгенологически подтвержденным возникновением долевых или сегментарных ателектазов.

У большинства детей с БЛД легкой степени тяжести к моменту выписки разрешается большинство симптомов. Хотя у детей с тяжелым течением может и в дальнейшем сохраняться ДН с наступлением смерти в результате серьезного повреждения легких, легочной гипертензии, формированием легочного сердца с признаками правожелудочковой недостаточности (кардиомегалия, гепатомегалия, задержка жидкости). Дети со среднетяжелой и тяжелой формой БЛД чаще подвержены риску острой легочной инфекции (бактериальной, вирусной, грибковой), которая осложняет течение заболевания, увеличивая степень повреждения легких, и становится причиной смерти таких детей [5]. Во многих исследованиях отмечается высокая частота повторных госпитализаций у детей с БЛД до 2-х лет, основной причиной госпитализаций служат острые заболевания органов дыхания [64,71,112].

БЛД является одним из наиболее значительных предикторов возникновения в разных возрастах нервно-психических нарушений [111,44,39]. В исследовании Давыдовой И.В. у 78% детей, родившихся с ОНМТ и ЭНМТ, имелись различные варианты последствий перинатального поражения центральной нервной системы

(ПП ЦНС) с риском формирования стойкого неврологического дефицита: органическое поражение ЦНС, детский церебральный паралич (ДЦП), симптоматическая эпилепсия. У 46% из этой группы детей была диагностирована БЛД различной степени тяжести, причем прослеживалась прямая зависимость между тяжестью БЛД и тяжестью неврологических нарушений [18,84]. В связи с этим, остается актуальной проблема сочетанной хронической патологии у таких детей, приводящей к инвалидности и нарушению качества жизни [20,47].

Исходы БЛД на настоящий момент продолжают изучаться и имеют большую вариабельность в развитии: от летального исхода до клинического выздоровления, с сохраняющимися в анамнезе функциональными и рентгенологическими изменениями. Описаны также исходы в хронический бронхит, облитерирующий бронхолит, эмфизему легких, рецидивирующий бронхит [18].

1.3. Мониторинг легочного повреждения при БЛД.

Помимо клинических характеристик, мониторинг легочного повреждения при БЛД включает результаты рентгенологического обследования, учет параметров функции внешнего дыхания (ФВД) и динамическое наблюдение за изменением биомаркеров – индикаторов воспаления и фиброза легочной ткани.

1.3.1. Лучевые методы в диагностике легочного повреждения при БЛД

В связи с появлением современных методов профилактики развития РДС и совершенствованием методов респираторной поддержки, поменялась и рентгенологическая картина БЛД. Все реже наблюдаются рентгенологические особенности, характерные для 4 стадии патоморфоза легочной ткани, описанные Northway W.H., так называемое «сетчатое легкое», характерное для тяжелой классической формы БЛД [103]. Для современной рентгенологической картины «новой» БЛД, в большинстве своем характерны «затуманенность» легочного рисунка (при легкой БЛД), с возможными длительно сохраняющимися сегментарными или очаговыми ателектазами (при БЛД средней тяжести) или повышенная прозрачность с участками уплотнения (при тяжелой БЛД) [17].

Отношение к рентгенологическим данным при БЛД в разных странах неоднозначное: в США в 2001 году согласно консенсусу (NICHD/NHLBI/ORD) было принято решение о том, что рентгенологические данные не играют роли в постановке диагноза и определении степени тяжести [55]. Согласно российской научно-практической программе по БЛД 2012 года, рентгенологические признаки, описанные Edwards D. K. в 1979 году, определяют степень тяжести заболевания наряду с анамнестическими и клиническими критериями [17].

Обзорная рентгенография органов грудной клетки остается доступным методом в отечественной практике и помогает в дифференциальной диагностике заболеваний легких новорожденных. Несмотря на то, что данный метод уступает по своим разрешающим способностям компьютерной томографии высокого разрешения [21]. Согласно федеральным клиническим рекомендациям по ведению детей с БЛД, для рентгенологической оценки БЛД предложена новая модифицированная шкала, разработанная Greenough A. с соавт. в 1999 году. Шкала оценивает количество участков вздутия, фиброза, кистозных элементов. В зависимости от набранных баллов, шкала позволяет дифференцировать детей (зависимых и независимых от кислорода в 36 недель ПКВ) и предсказать возможность рецидивов респираторных симптомов в 6 месяцев скорректированного возраста. Рентгенологическое исследование грудной клетки рекомендуется проводить детям с БЛД в ОРИТ новорожденных не реже 1-2 раз в месяц; при ухудшении состояния – чаще. В настоящее время определены показания для проведения детям с БЛД высокоразрешающей компьютерной томографии (ВРКТ) легких, которая позволяет более детально визуализировать структурные изменения легочной ткани. На основании обследования с помощью ВРКТ 140 детей с БЛД Яцык Г.В. и соавт. в 2010 году предложили отечественную шкалу оценки тяжести БЛД в зависимости от степени выраженности пяти критериев [48]. Авторами было установлено, что уменьшение суммы баллов происходит, преимущественно, за счет снижения гиперинфляции и распространённости фиброзных проявлений. Отмечено, что рентгенологические изменения при проведении ВРКТ в разной степени сохраняются у всех больных с БЛД до 2-х-летнего возраста и далее, независимо от степени тяжести заболевания.

1.3.2. Методы оценки функции внешнего дыхания у детей раннего возраста в диагностике легочного повреждения при БЛД

Изучение особенностей ФВД у детей с БЛД первых лет жизни способствует правильной оценке тяжести состояния ребенка, мониторингом функции бронхолегочной системы, совершенствованию дифференциальной диагностики и выбору оптимальных методов лечения. На сегодняшний день имеется ряд методов, которые используются у детей раннего возраста без кооперации с пациентом:

- оценка спокойного дыхания (флоуметрия спокойного дыхания (ФСД) -Tidal breathing analyses);
- форсированного дыхания (RTC - метод торакоабдоминальных компрессий);
- «беби» бодиплатизмография;
- акустические методы (бронхофонография и другие);
- окклюзионные методики (SOT - single occlusion technique, MOT - multy occlusion technique, Rint - сопротивление дыхательных путей)

На сегодняшний день среди методов функциональной диагностики флоуметрия спокойного дыхания (ФСД) является одним из немногих легочных тестов, не требующих лекарственной седации, но требует дорогостоящего оборудования и специально обученного персонала. В исследовании Басаргиной Е.Ю., обследовавшей 113 детей раннего возраста с БЛД при помощи данной методики, был выявлен временной показатель - относительное время пикового потока на выдохе (tPTEF%tE), информативный при оценке бронхообструктивного синдрома у недоношенных детей с БЛД. Автором было доказано, что данный показатель может использоваться, как прогностический фактор в оценке течения БЛД: при значении tPTEF%tE ниже 20%, в кооперации с суммой баллов ВРКТ органов грудной полости более 10, можно прогнозировать тяжелое течение БЛД с возможным исходом в хронический бронхолегочный процесс [7].

Основным регистрируемым показателем метода торакоабдоминальных компрессий (RTC) и его модификации с расширенным объемом является

максимальный форсированный поток выдоха (V'_{\max} FRC). Этот маневр осуществляется с помощью компрессии на грудь и живот надувного жилета, способствующего максимальному изгнанию воздуха при выдохе. Измерение параметра V'_{\max} FRC опирается на показатель функциональной остаточной емкости легких (FRC), который нестабилен у детей раннего возраста и зависит от калибра дыхательных путей и состояния сна [101]. Этот метод был использован в исследовании Thunqvist P. и соавт., которые обследовали 55 детей с БЛД разной степени тяжести в постнатальном возрасте 6 и 18 месяцев, учитывая клинические проявления обструкции в течение этого периода. Учеными было получено, что при катамнестическом наблюдении через 6 и 18 месяцев, участники исследования с респираторными симптомами показали более низкие результаты V'_{\max} FRC по сравнению с участниками без симптомов [126].

Бодиплетизмография в модификации «Бэбибоди» позволяет оценить детям раннего возраста структуру общей емкости легких, измерить бронхиальное сопротивление, исследовать статическую и динамическую растяжимость легких. В последние годы широко используется в педиатрии, но при проведении у детей раннего возраста требует седации, что может приводить к изменению регистрируемых параметров. Кроме этого, высокая стоимость оборудования не делает ее общедоступной методикой, выполнимой в амбулаторных условиях [66]. Robin В. и соавт. использовали данный метод в комбинации с RTC при обследовании 27 детей с БЛД в возрасте 68.0 ± 35.6 недель. Получили достоверно высокие показатели у детей с БЛД: функциональной остаточной емкости (FRC) - $107,9 \pm 25,3\%$, остаточного объема (RV) - $124,5 \pm 42,7\%$, а также отношения остаточного объема к общей емкости легких (RV / TLC) - $128,2 \pm 35,3\%$ [108]. Подобное исследование с использованием бодиплетизмографии в сочетании с RTC провели Filbrun A.G. и соавт. Они обследовали 18 детей с БЛД в постнатальном возрасте 59 и 92 недели, сравнив потоковые и объемные показатели в динамике и в зависимости от роста. Получили, что с возрастом дети с ростом выше среднего улучшили показатели потоков и объемов по сравнению с детьми среднего и ниже среднего роста [73].

Принцип действия акустических методов оценки ФВД, в частности, бронхофонографии основан на регистрации звуковой волны в процессе дыхания. В основе бронхографии лежит анализ частотно-амплитудных характеристик шумов (паттерна дыхания) с последующей математической обработкой. Частота колебаний дыхательных шумов определяется в пределах от 0 до 12,4 кГц, зона высоких частот (5-20 кГц) взаимосвязана со звуковыми характеристиками сухих хрипов, все фиксируемые дыхательные шумы отображаются на экране монитора компьютерного комплекса. Метод позволяет оценить наличие обструктивных нарушений и эффективность проводимой бронхолитической терапии [16,43]. Павлинова Е.Б. и соавт. доказали прогностическую ценность параметров метода бронхофонографии для определения риска развития БЛД путем создания математической модели [27]. Недостаток этой методики заключается в необходимости определенной степени кооперации с пациентом, так как плач, беспокойство и другие шумовые маневры могут давать неточные результаты при регистрации звукового паттерна и влиять на достоверность исследования.

В настоящее время наиболее простыми и быстровыполнимыми являются различные окклюзионные методики: метод одиночной окклюзии (SOT - single occlusion technique), метод множественных окклюзий (MOT – multy occlusion technique), метод прерывания воздушного потока (Rint) и другие [76]. Имеются данные об успешном использовании метода одиночной окклюзии (SOT) у 546 доношенных детей в возрасте до 2 месяцев, с помощью однофакторной линейной регрессии выявлена отрицательная взаимосвязь респираторного сопротивления у детей с пониженными данными спирометрии (FEF_{25-75%}, FEV₁) их родителей. Исследование показало, что уровень родительской функции легких является предиктором дыхательной механики их новорожденных детей [129].

По сравнению с описанными ранее тестами, измерение сопротивления воздухоносных путей методом Rint применяется в клинической практике не так широко. Метод неинвазивный, достоверный, выполняется с помощью легкого портативного устройства и не требует кооперации с пациентом и седации [52,99]. Техника прерывания для измерения сопротивления дыхательных путей была впервые описана Von Neergaard К. и Virz К. в 1927, но на протяжении многих лет

не получала широкого распространения [133]. Начиная с конца 1980-х годов, интерес к технике возродился благодаря теоретическим работам на животных Bates J. и его сотрудников [57]. В последующем пользу методики Rint увеличили ученые Lombardi E., Merkus P.J.F.M. и McKenzie S.A., определив нормальные значения респираторного сопротивления для здоровых детей с учетом роста в возрасте от 2 до 13 лет [101, 96, 100]. Karakoç E. и соавт. обследовали 15 детей дошкольного возраста (2-5 лет), родившихся ранее 32 недель гестации с ОНМТ, получавших респираторную поддержку в неонатальном периоде (из этих детей БЛД сформировали 23%). С помощью методики Rint определяли исходное респираторное сопротивление (на вдохе и на выдохе), а также после ингаляции сальбутамола (Rint Post) [87]. Было получено, что исходный Rint на вдохе выше у недоношенных детей по сравнению с аналогичным показателем у доношенных здоровых детей, при сравнении исходного Rint на выдохе достоверной разницы получено не было. Среднее значение исходного Rint на вдохе против Rint Post на вдохе также достоверно отличались в сторону уменьшения последнего показателя. В настоящее время существует немного данных об использовании методики Rint у недоношенных детей до 2 лет и совсем нет данных об ее использовании у детей с БЛД раннего возраста. Возможно, редкое использование данной методики связано с противоречивыми данными разных исследователей в отношении недоношенных раннего возраста [123,62]. Несмотря на противоречия, методика достаточно информативна в мониторинге бронхообструктивных состояний [69,58]. Данные Garra C. и соавт. о том, что единичные параметры ФВД не могут точно описать изменения, лежащие в основе патологии легких, на наш взгляд, правомочны [75]. Поэтому для более целостного представления о состоянии респираторной системы недоношенных следует учитывать показатели ФВД в совокупности с анамнестическими, клиническими, рентгенологическими и биомолекулярными данными.

1.3.3. Роль биомаркеров в развитии легочного повреждения при БЛД.

В реализации БЛД персистирующему воспалению отводится значительная роль. Рассматривая воспаление, как результат взаимодействия огромного числа

антигенпредставляющих и иммунокомпетентных клеток между собой (контактно или с помощью различных медиаторов: цитокинов и хемокинов), а также с клетками соединительной ткани, эндотелия и альвеолоцитами, особую значимость в определении степени легочного повреждения приобретают соотношения между различными цитокинами и металлопротеиназами (MMPs) – непрямыми маркерами фиброза [8].

Известно, что уже внутриутробно, в результате влияния хориоамнионита, наблюдается увеличение провоспалительных интерлейкинов: ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8 в сыворотке крови плода и повышается риск развития БЛД [79,131,70]. ИЛ-1 β и ФНО- α играют важную роль при БЛД, запуская каскад реакций по индукции синтеза других воспалительных медиаторов, влияющих на миграцию клеток-участников воспаления. Kramer В.W. и соавт. индуцировали БЛД на животной модели, впрыскивая липополисахарид или ИЛ-1 в амниотический мешок [90]. По мнению Greenlee К.J. и соавт., провоспалительные цитокины ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- α потенцируют выработку металлопротеиназ как в культивированных клетках, так и в естественных условиях [77]. В то время как ИФН- γ и интерлейкины -4 и -10 подавляют синтез MMPs [106,110]. Лишь некоторые члены семейства MMPs (MMP2 и MMP14) находятся в пределах легочной ткани в обычных условиях, многие из них (MMP7, MMP8, MMP9, MMP12) активируются только во время острых и обострений хронических заболеваний легких. Так, в развивающихся легких мышей, отсутствуют определяемые концентрации MMP3, MMP9, MMP10, тканевого ингибитора матриксных протеиназ-1 (TIMP1) [29,104].

Анализ белкового профиля альвеолярной жидкости у детей с БЛД позволил выявить фрагменты MMP3 и установить корреляцию между наличием MMP3 и развитием БЛД [130]. MMP3 или стромелизин-1 секретируется внеклеточно в легких эпителиальными клетками, альвеолярными макрофагами, а также фибробластами и катализирует деградацию многих компонентов соединительной ткани, включая протеогликаны, линк-белок, коллаген типов II, IV, IX и XI, ламинин и фибронектин. Помимо этого способна принимать участие в протеолитической активации других MMPs, таких как MMP1, -8 и -9. MMP3

может также влиять на деградацию экстрацеллюлярного матрикса через активацию проколлагеназы-1. Контакты клетка-клетка также подвержены влиянию MMP3 путем расщепления E-кадгерина – белка, расположенного на стыках между эпителиальными клетками, что важно для поддержания целостности альвеолярно-капиллярного барьера [72,136,67,35].

Учитывая, что коллаген IV типа, а также ламинин являются основой базальных мембран и подвержены деградации в результате повышенного синтеза MMP3, возможно развитие фиброза легочной ткани в связи с нарушением целостности альвеолярно-капиллярного барьера. Причем сам процесс восстановления нарушенного альвеолярно-капиллярного барьера также требует наличия целостной базальной мембраны, обеспечивающей платформу для адгезии и миграции клеток.

Многие ученые пытались найти среди интерлейкинов предикторы формирования БЛД или тяжести течения данного заболевания. Ambalavanan N. и соавт., исследовали сыворотку крови 1068 детей с ЭНМТ на наличие 25 цитокинов, которую забирали после рождения в течение 4 часов и на 3, 7, 14 и 21 день, и обнаружили взаимосвязь с развитием БЛД и смертельным исходом при высоких показателях ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, интерферона-гамма (ИФН- γ) и низких показателях ИЛ-17, ФНО- β , хемокина, экспрессируемого и секретируемого Т-клетками при активации (RANTES) [50]. Koksal N. и соавт. обследовали 102 недоношенных ребенка с клиникой РДС (гестационный возраст менее 32 недель и масса менее 1500 граммов) и выявили пониженный уровень ИЛ-10 и повышенные уровни ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-1, как в сыворотке крови, так и в образцах аспирата из трахеи у детей в последующем развивших БЛД (n=31, 30%) [89]. Панченко А.С. и соавт. также подтвердили увеличение в крови концентрации провоспалительных интерлейкинов: ИЛ-1 β , ФНО- α и противовоспалительного ИЛ-4 у детей с БЛД в постнатальном возрасте от 1 до 4 месяцев [29].

В связи с вышесказанным, определение уровней таких биомаркеров, как ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10 и MMP3, важно не только в качестве оценки их предикторной роли формирования или тяжести БЛД, но и с целью изучения их

возрастной эволюции, как маркеров, отражающих баланс между про- и противовоспалительными факторами и влияющих на процесс фиброза легочной ткани.

Таким образом, проведенный анализ литературных данных указывает на многофакторность этиопатогенеза БЛД, диктует нам необходимость учитывать весь комплекс составляющих этого заболевания при мониторинговании его течения: особенности клинической картины, состояние вентиляционной функции легких, выраженность процессов воспаления и фиброза, влияние генетических полиморфизмов через функцию β 2-адренорецептора на один из основных клинических симптомов обострения при БЛД – бронхообструкцию. Комплексное изучение взаимосвязей отдельных составляющих, может дать целостное представление о течении заболевания и персонализировать терапию. Все это требует уточнения, которое проведено в нашем исследовании.

Глава II

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты и объем исследования

Работа выполнена в 2014-2016 гг. на кафедре факультетской педиатрии ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера, на базе ГБУЗ ПК "Краевой детской клинической больницы" г. Перми (главный врач - д.м.н. Д.В. Антонов), Пермского краевого специализированного дома ребенка №5 (заведующая И.Ю. Батюкова), центра здоровья ГБУЗ ПК «Городской детской клинической поликлиники №2» (руководитель центра - к.м.н. Т.И. Кирьянова).

Дизайн исследования основан на проведении открытого выборочного поперечного исследования у 119 детей: 40 детей с БЛД (основная группа), 79 здоровых детей (2 группы сравнения), см. рисунок 2.1.

Согласно Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации всем родителям и опекунам было предоставлено и ими подписано информированное согласие на обследование ребенка, одобренное Локальным этическим комитетом при ГБОУ ВПО «ПГМУ им. ак. Е.А. Вагнера» протокол №3 от 25.09.14.

Дизайн исследования

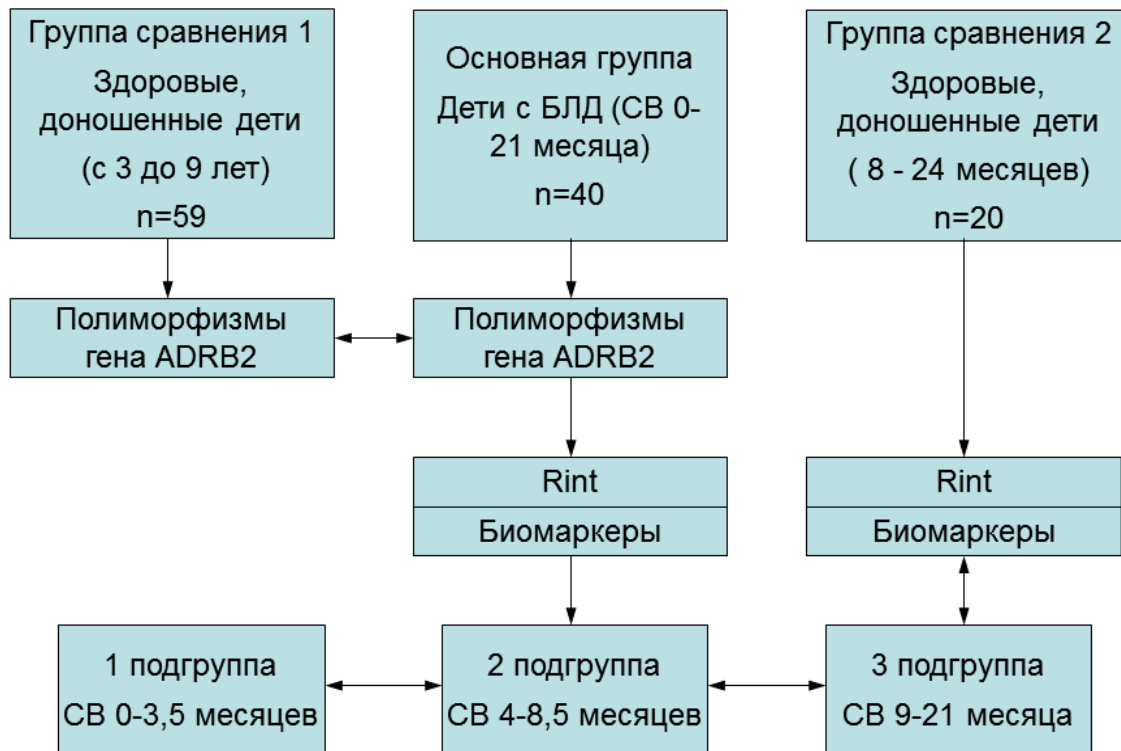


Рисунок 2.1 Дизайн исследования

Отбор детей проводился согласно установленным критериям включения.

Критерии включения в группу детей с БЛД:

- недоношенные дети со скорректированным возрастом (СВ) от 0 до 21 месяца, находящиеся в условиях стационара и дома ребенка;
- установленный диагноз БЛД недоношенных разной степени тяжести в период обострения и ремиссии. Форма и степень тяжести БЛД каждого из обследуемых пациентов были определены согласно критериям, прописанным в национальном руководстве по БЛД [21];
- наличие информированного согласия родителей и опекунов на обследование их детей;

Критерии исключения:

- БЛД доношенных;
- недоношенные дети без БЛД;

- недоношенные дети с БЛД в сочетании с грубыми пороками развития сердечнососудистой системы и трахеобронхиального дерева.

Нами были выделены 3 группы:

- основная группа – недоношенные дети с БЛД в период ремиссии и обострения СВ от 0 до 21 месяца (n=40);

- 1-ю группу сравнения по двум полиморфизмам (Arg16Gly и Gln27Glu) гена β 2-адренорецептора (ADRB2) составили 59 практически здоровых детей в возрасте от 3 до 9 лет;

- 2-ю группу сравнения по биомаркерам и респираторному сопротивлению составили здоровые доношенные дети в возрасте от 8 месяцев до 2 лет (n=20)

Таблица 2.1

Объекты и объем исследования

№	Форма исследования	Объекты	Объем
1	Изучение анамнеза	История развития ребенка, ф.112	112
		История болезни, ф.003/у	60
		История развития ребенка ф.26	7
		Материалы анкеты-опросника	40
2	Клиническое обследование	Данные объективного осмотра	119
3	Лабораторное обследование	ИФА (иммуноферментный анализ крови):	
		ИЛ-1 β	50
		ИЛ-4	50
		ИЛ-10	60
		ММР3	60
		Мазок из носа на РСВ иммунохроматографическим экспресс-методом «Vegal» (Франция)	60

		Взятие образцов крови для ПЦР в реальном времени на выявление ОНП Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2	99
4	Инструментальное обследование	Пульсоксиметрия	60
		Определение сопротивления дыхательных путей методом Rint	65
		Проведение пробы с бронхолитиком (Post)	65

2.2 Методы исследования

В работе были использованы общеклинические, лабораторные, генетические, инструментальные и статистические методы исследования.

2.2.1. Общеклинические методы

Изучение анамнеза осуществлялось по историям развития (формы 112, 26), историям болезни стационарного больного и с помощью родителей или опекунов в результате заполнения специально разработанной анкеты-опросника (см. приложение №1). Исходя из полученных данных, был проанализирован акушерско-гинекологический анамнез матерей, их социальный статус, вредные привычки, гестационный возраст и вес при рождении недоношенных детей, изучены характер и сроки респираторной поддержки и кислородной зависимости, уточнена форма и степень тяжести основного заболевания у детей, определена сопутствующая патология, характер и частота обострений БЛД, проводимая терапия.

Объективное обследование проводилось традиционно в виде измерения антропометрических показателей, частоты дыхания, частоты сердечных сокращений, проведения аускультации легких.

2.2.2. Лабораторное обследование

В программу иммунологического обследования входило определение уровней интерлейкинов: ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10 и непрямого маркера фиброза металлопротеиназы-3 (ММР3) в сыворотке крови. Забор крови осуществлялся по стандартной методике - из кубитальной вены, в стерильных условиях, в дальнейшем кровь центрифугировалась и сыворотка замораживалась при температуре -20° С. Срок хранения образцов не превышал 6 месяцев. Из анализа удалялись гемолизированные, липемичные, мутные образцы. Уровень ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10 определяли с помощью тест-систем производства ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ» (Россия, Новосибирск) методом иммуноферментного анализа (ИФА). Для количественного определения уровня ММР3 использовался диагностический набор «Human MMP3 ELISA» (Invitrogen Corporation, USA, California). Иммунологические реакции были поставлены на базе Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН г. Пермь (зав. лабораторией - д.м.н. Гейн С.В.).

Антиген респираторно-синцитиального вируса (РСВ) в назальном секрете определялся иммунохроматографическим экспресс-методом «Vegal» (Франция), тест-система представляет собой полоску, одноразовые пластиковые пипетку и пробирку, реагент (буферный раствор) и тампон для взятия исследуемого материала. Каждому ребенку был взят мазок по определенным правилам согласно инструкциям к тест-системе. Устройство тест-системы представляет собой мембранный стрип, на который нанесены 2 полосы: моноклональные антитела к РСВ (тестовая полоса «Т») и антитела к иммуноглобулинам G (контрольная полоса «С»). Результат исследования определяется через 10 минут. Контрольная линия проявится, если процедура выполнена правильно и реагенты пригодны для анализа. При добавлении образца в окно S, антиген вируса реагирует с конъюгатом моноклональных антител, образуя комплекс «антиген-антитело». Этот комплекс мигрирует вдоль стрипа до тестовой зоны, где формирует видимую глазом окрашенную полосу, если в образце содержится достаточное количество антигена.

Определение двух однонуклеотидных полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 осуществлялось в лаборатории ЗАО «Синтол» г. Москва методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени на оборудовании Real-time CFX96 C1000 Touch, Bio-Rad. Объектом исследования послужили образцы крови на фильтровальной бумаге. Выделение ДНК из образцов крови на фильтровальной бумаге проводилось с использованием набора «ДНК-экстран-1» (фирма «Синтол», Россия).

2.2.3. Инструментальные методы

Для определения сатурации (SaO_2), насыщения крови кислородом, использовали пульсоксиметр со специальным гибким многоцветным датчиком, который крепится на пальце или на ручке ребенка. Прибор проводит измерения в процентах и показывает соотношение обогащенного кислородом гемоглобина к количеству всего гемоглобина крови. Светодиоды прибора во время его работы создают инфракрасный и красный свет. Этот свет проходит через мягкие ткани пальца или запястья и улавливается специальным фотодетектором, установленным напротив излучателя света. Норма сатурации кислорода, определенной пульсоксиметром, равна 95-100%, снижение сатурации до 93% считается клинически незначимым. При работе прибора на экране отображаются данные: насыщенность кислородом (в процентах), пульс (в количестве ударов в минуту) и плетизмограмма (кривая пульса).

Исследование сопротивления дыхательных путей проводилось техникой прерывания воздушного потока (Rint) на устройстве «MicroRint» (MicroMedical UK) на выдохе в исходном состоянии и после пробы с бронхолитиком (Rint Post). Результат теста Rint вычислялся автоматически и визуализировался в абсолютных цифрах на экране в виде показателя baseline resistance (kPa/l/s) – это давление в момент кратковременного перекрытия воздухоносных путей клапаном датчика. Для расчета должностного показателя baseline resistance (kPa/l/s) дыхательных путей с учетом роста ребенка использовали формулу: $1,275 - 0,006 \times \text{рост (см)}$, а затем рассчитывали процент от должностного показателя. За норму принимали показатели сопротивления дыхательных путей до 101% согласно стандарту Меркуса. Существует несколько стандартов оценки baseline resistance,

учитывающих возрастные и ростовые показатели (Lombardi, Merkus, McKenzie). Для оценки обратимости обструкции проводили пробу с беродуалом. Оценивали пробу через 20 минут с повторным проведением Rint. Пробу с бронхолитиком (беродуалом) считали положительной при снижении исходного показателя (baseline resistance) более чем на 12% (по аналогии со спирографией).

Тест проводился в положении ребенка на руках в горизонтальном положении, либо лежа в кроватке (при СВ до 1 года), либо сидя на коленях (при СВ старше 1 года), см. рисунок 2.2. Для проведения метода использовались специальные маски с плотно прилегающими краями разных размеров и одноразовые фильтры см. рисунки 2.3,2.4. При неадекватной реакции ребенка на обследование: крик, плач, задержка дыхания - результат исследования не учитывался. У детей до 1 года проще и информативнее было осуществлять методику во сне.



Рисунок 2.2 Определение сопротивления дыхательных путей методом Rint с помощью лицевой маски у ребенка со СВ старше 1 года



Рисунок 2.3 Лицевые маски для проведения методики Rint



Рисунок 2.4 Одноразовые фильтры для проведения методики Rint

Суть метода основана на том, что величина сопротивления дыхательных путей при спокойном дыхании у здорового человека не зависит от параметров дыхательного цикла, являясь постоянной величиной. Увеличение сопротивления у больных связывают с уменьшением поперечного сечения дыхательных путей. В данной методике происходит кратковременное прерывание воздушного потока на 100 мс с помощью специального клапана, фиксируются 5 попыток, после чего результат выдается автоматически с учетом адекватных попыток на экране прибора. Необходимо отметить, что метод перекрытия воздушного потока позволяет получить точные результаты, при условии очень быстрого (в течение 0,1 с) выравнивания давления в системе альвеолы-бронхи-трахея-полость рта. При этом на долю верхних дыхательных путей приходится около 25% общего сопротивления воздухоносных путей, на долю трахеи, долевых, сегментарных бронхов - около 60%, а мелких воздухоносных путей – около 15%.

Измерение сопротивления дыхательных путей методом Rint дает достаточно информативную картину о состоянии функции внешнего дыхания у детей раннего возраста без кооперации с пациентом и наличия дорогостоящего оборудования, хотя не всегда выполняется успешно в силу сочетанной неврологической патологии и кислородной зависимости у преждевременно родившихся детей. Мы считаем, что результативнее осуществлять методику во время сна, в положении лежа на спине в кроватке, либо на руках матери через 20-30 минут после кормления. В положении сидя на коленях у матери дети чаще проявляют беспокойство.

2.2.4 Статистические методы

Статистическая обработка данных проводилась методами описательной статистики и корреляционного анализа с помощью пакета программ Statistica 10 и была выражена в случае нормального распределения признака в виде средней арифметической и ее стандартного отклонения ($M \pm SD$), в случае ненормального распределения в виде медианы и интерквартильного интервала ($Me[10;90]$). Проверка параметров на нормальность осуществлялась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Для сравнения независимых выборок по количественным признакам использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Определение различий между качественными признаками проводили с использованием критерия Хи-квадрат (χ^2), Мак-Немара (McNemar). Различия показателей считались статистически значимыми при уровне ошибки $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента корреляции Спирмена (r). Связь между значениями оценивалась по силе связи: сильная при $r > |0,7|$, средняя - $|0,3| < r < |0,7|$, слабая - $r < |0,3|$.

Глава III

КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕТЕЙ С БЛД И ГРУПП СРАВНЕНИЯ

3.1 Характеристика группы детей с БЛД

Группу детей с БЛД составили 40 детей со СВ на момент обследования от 0 до 21 месяца (средний СВ составил $9,2 \pm 7,7$ месяцев). Мальчики преобладали (60%) над девочками (40%), что подтверждает литературные данные [24]. Дети родились со сроком гестации от 23 до 34 недель (средний срок гестации $27,7 \pm 2,7$ недели), причем 30 детей (75%) – глубоко недоношенными (со сроком гестации ≤ 28 недель). Масса тела при рождении составила от 640 до 1810 граммов (среднее значение $1091 \pm 336,9$ г). Причем половина обследованных детей (52,5%, $n=21$) имела ЭНМТ при рождении.

Диагноз БЛД недоношенных средней и тяжелой степени тяжести встречался с примерно равной частотой – в 40% и в 42,5% случаев соответственно, легкая степень тяжести отмечалась в 17,5 % случаев. Примерно в равном соотношении регистрировалась новая и классическая формы (45% и 55% соответственно). Детей с БЛД, поступивших в обострении и вне такового, было поровну ($n=20$). Практически каждый третий ребенок (32,5%, $n=13$) в момент обострения нуждался в кислородотерапии, 5 детей находились на СРАР в отделении реанимации и неотложной терапии (ОРИНТ), еще 8 детей получали кислород через маску. Обследование детей, поступивших в обострении, проводилось в период стабилизации общего состояния, при возможности спонтанного дыхания и нормализации сатурации и аускультативной картины в легких. Краткая описательная характеристика группы представлена в таблице 3.1.

Таблица 3.1

Описательная характеристика группы детей с БЛД

Пол	мальчики	24 (60%)
	девочки	16 (40%)
Возраст на момент обследования (СВ)		
Возраст на момент обследования (СВ)	0-3,5 месяцев	11 (27,5%)
	4-8,5 месяца	12 (30%)
	9-21 месяца	17 (42,5%)
Гестационный возраст, недели		
Гестационный возраст, недели	≤ 28 недель	30 (75%)
	с 29 по 34 недели	10 (25%)
Масса тела при рождении, граммы		
Масса тела при рождении, граммы	ЭНМТ < 1000 г	21 (52,5%)
	ОНМТ ≥1000 < 1500 г	14 (35%)
	НМТ ≥ 1500 < 2000 г	5 (12,5%)
Форма БЛД		
Форма БЛД	Классическая	22 (55%)
	Новая	18 (45%)
Степень тяжести БЛД		
Степень тяжести БЛД	Легкая	7 (17,5%)
	Среднетяжелая	16 (40%)
	Тяжелая	17 (42,5%)
Проведение терапии сурфактантом при рождении		
Проведение терапии сурфактантом при рождении	Проведена	18 (45%)
	Не проведена	18 (45%)
	Нет информации	4 (10%)

При анализе историй болезни, обращал на себя внимание осложненный акушерско-гинекологический анамнез (ОАГА) у 77,5% матерей, дети которых сформировали БЛД. Структура ОАГА представлена на рисунке 3.1.

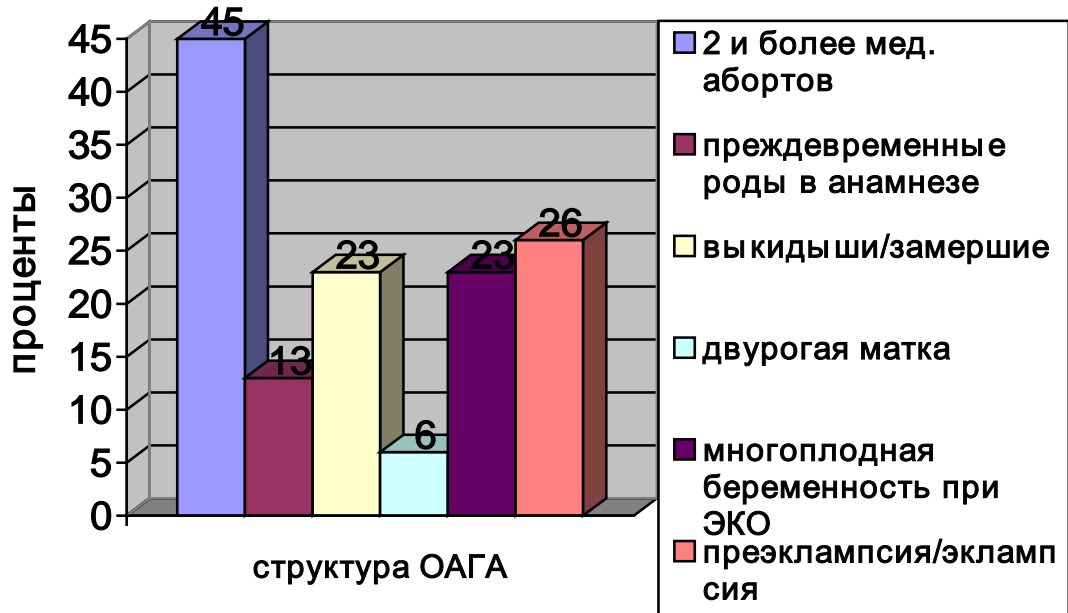


Рисунок 3.1 Структура осложненного акушерско-гинекологического анамнеза у матерей, дети которых сформировали БЛД

Среди матерей 20% (n=8) имели низкий социальный статус: отсутствие среднего образования (n=3), безработные (n=3), недееспособность (n=1), пребывание в местах лишения свободы (n=1). У 35% (n=14) матерей отмечены деликвентные заболевания (алкоголизм/наркомания и/или табакокурение). 17,5% детей (n=7) находились без попечения родителей в доме ребенка.

При изучении неонатального периода в группе детей с БЛД было выявлено, что все дети в 100% случаев имели перинатальное поражение центральной нервной системы (ПП ЦНС). В 60% случаев (n=24) ПП ЦНС тяжелой степени тяжести (синдром угнетения и внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) III-IV степени). Каждый пятый ребенок находился в специализированном доме ребенка с органическим поражением ЦНС. У 100% детей с ЭНМТ (n=21) была диагностирована ретинопатия недоношенных 2-3 степени и анемия тяжелой степени, потребовавшая гемотрансфузий. Также у 100% детей регистрировалась внутриутробная инфекция (ВУИ) с поражением разных систем органов (кардиты,

менингиты, гепатиты, пневмонии, сепсис), причем среди возбудителей выявляли цитомегаловирус (ЦМВ), токсоплазмы, уреоплазмы, хламидии, вирус простого герпеса (ВПГ). Диагноз внутриутробной пневмонии имели 70% (n=28) из преждевременно родившихся детей.

Таблица 3.2

Характеристика сопутствующей патологии неонатального периода в группе детей с БЛД

Сопутствующая патология		группа с учетом массы при рождении	N/доля в группе, %
ПП	Средней тяжести	ЭНМТ+ ОНМТ+НМТ	16 (40%)
ЦНС	Тяжелой степени	ЭНМТ+ ОНМТ+НМТ	24 (60%)
Ретинопатия недоношенных 2-3 степени		ЭНМТ (n=21)	21 (100%)
		ОНМТ (n=14)	3 (21%)
Анемия тяжелой степени, потребовавшая гемотрансфузий		ЭНМТ (n=21)	21 (100%)
		ОНМТ (n=14)	5 (36%)
ВУИ	кардит, менингит, гепатит, сепсис	ЭНМТ+ ОНМТ+НМТ	16 (40%)
	пневмония	ЭНМТ+ ОНМТ+НМТ	28 (70%)

У детей, поступивших в стационар в период обострения, (n=20) наблюдалась разная клиническая картина: пневмония, обструктивный бронхит, бронхиолит, см. рисунок 3.2.

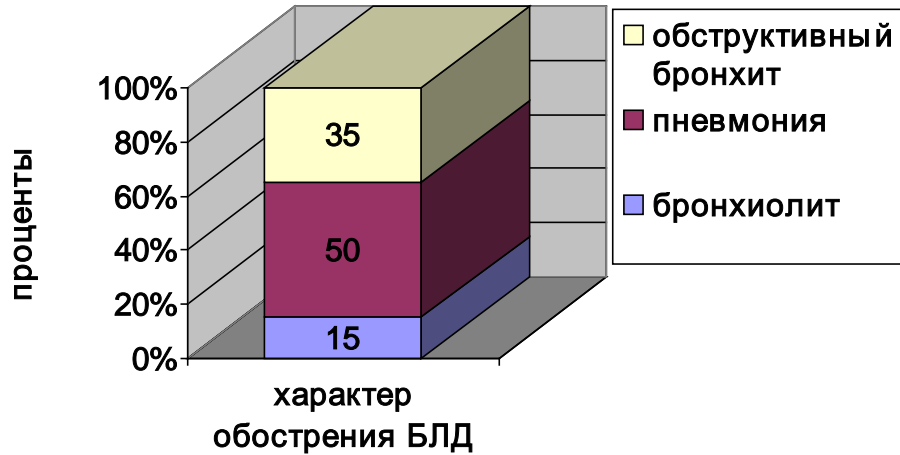


Рисунок 3.2 Структура характера обострений при БЛД

В 100% случаев бронхиолиты были РСВ позитивными с разной аускультативной картиной: преобладание крепитации на фоне обилия разнокалиберных хрипов ($n=2$), преобладание свистящих и жужжащих хрипов ($n=1$).

Средняя величина SaO_2 в группе с БЛД составила $95,8 \pm 2,6\%$ и колебалась от 90% до 99%, причем в подгруппе у детей, поступивших в обострении, средний показатель SaO_2 был равен $93,4 \pm 2,2\%$, вне обострения - $97,2 \pm 1,2\%$.

Для оценки респираторного сопротивления, ответа на бронхолитик ($R_{int}/R_{intPost}$) и значений биомаркеров легочного повреждения у детей с БЛД в разные возрастные периоды, нами были выделены подгруппы в зависимости от СВ. Первую (1) подгруппу составили 11 детей со СВ на момент обследования от 0 до 3,5 месяцев, во вторую (2) подгруппу вошли 12 детей со СВ 4 до 8,5 месяцев и третью (3) подгруппу составили 17 детей со СВ от 9 до 21 месяца. Характеристика подгрупп детей с БЛД в разные возрастные периоды представлена в таблице 3.3.

Таблица 3.3

Характеристика подгрупп детей с БЛД в разные возрастные периоды

	1 подгруппа, СВ от 0 до 3,5 месяцев, n=11	2 подгруппа, СВ от 4 до 8,5 месяцев, n=12	3 подгруппа, СВ от 9 до 21 месяца, n=17	Медианный тест для независимых групп / χ^2 , McNemar (для долей)
Гестационный возраст, М±σ, недели	27,9±3,6	27,0±2,3	28,0±2,5	p=0,2
Масса при рождении, М±σ, граммы	1080±421	991±264	1255±478	p=0,5
SaO ₂ на момент обследования, М±σ, %	94±3,1	95,7±1,95	97,2±1,3	p=0,01*
Доля детей, получивших сурфактант, %	54	36	70,6	p1-2=0,3 p2-3=0,05* p1-3=0,4
Доля «классической» формы БЛД, %	73	73	29,4	p1-2=0,9 p2-3=0,02* p1-3=0,02*
Доля БЛД тяжелой степени тяжести, %	73	54	17,6	p1-2=0,3 p2-3=0,2 p1-3=0,02*
Доля детей, госпитализированных в период обострения, %	91	55	17,6	p1-2=0,06 p2-3=0,04* p1- 3=0,0001*
Доля RSV«+» пациентов, %	18	17	0	p1-2=0,7 p2-3=0,001* p1-3=0,001*
Доля детей, получавших ингаляционную терапию будесонидом, %	100	64	35	p1-2=0,1 p2-3=0,5 p1-3=0,04*
Средняя суточная дозировка по будесониду, грамм	0,77±0,2	0,75±0,25	0,5±0	

*- p < 0,05

Исходя из представленных в таблице 3.3 данных, дети трех подгрупп сопоставимы по сроку гестации и массе тела при рождении. Доля детей получивших заместительную терапию сурфактантом выше у детей третьей подгруппы – 71% детей. В этой же подгруппе преобладают дети с «новой» формой БЛД (71% против 27% в двух других подгруппах, $p=0,02$). Согласно полученным данным с возрастом снижается тяжесть БЛД, а также частота госпитализаций, связанных с обострением заболевания. Уменьшается потребность в ингаляционных стероидах: со 100% среди детей со СВ до 3,5 месяцев до 35% у детей со СВ старше 9 месяцев. Возрастает показатель сатурации кислорода на момент обследования: от $94\pm 3,1\%$ до $97,2\pm 1,3\%$. РСВ инфекция встречалась у детей первых двух подгрупп с одинаковой частотой – в 17-18% случаев. Уменьшение потребности в ингаляционных кортикостероидах и увеличение сатурации кислорода могут быть связаны, как с результатом эффективно проводимой терапии, так и с «дозреванием» легких.

3.2 Характеристика 1 группы сравнения по частоте встречаемости полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2

Группу сравнения 1 - по частоте встречаемости полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2, составили 59 здоровых детей в возрасте от 3 до 9 лет (средний возраст $6,05\pm 3,5$ года). Среди этих детей мальчиков было 59% ($n=35$), девочек - 41% ($n=24$). Данные анамнеза, полученные в результате анализа амбулаторных карт, и объективный осмотр подтвердили отсутствие у детей группы сравнения аллергических заболеваний (кожных и респираторных) и хронических заболеваний со стороны сердечной и бронхолегочной систем. Наследственность не была отягощена (в двух поколениях с обеих сторон) по аллергической патологии, а также по врожденным порокам развития и заболеваниям дыхательной и сердечно-сосудистой систем. Все дети были рождены в срок. На момент обследования жалоб не предъявляли, объективно: самочувствие не страдало, катаральных явлений не было, при аускультации респираторные шумы не определялись.

3.3 Характеристика 2 группы сравнения по биомаркерам и респираторному сопротивлению

Группу сравнения 2, по показателям биомаркеров и функции внешнего дыхания, составили 20 здоровых доношенных детей в возрасте от 8 до 24 месяцев (средний возраст на момент исследования - $13,3 \pm 5,0$ месяцев). До настоящего времени нет единого мнения в научных кругах об эталоне группы сравнения для недоношенных детей с БЛД. Поскольку, нет четких диапазонов значений показателей ФВД и биомаркеров среди недоношенных детей без БЛД [5]. Поэтому, мы сравнили показатели биомаркеров, респираторного сопротивления и ответа на бронхолитик у недоношенных детей с БЛД 3 подгруппы с аналогичными данными у доношенных детей, сопоставимых по возрасту. Все дети группы сравнения находились в отделении раннего возраста с диагнозом: ОРВИ, средней степени тяжести и обследовались на момент выздоровления. В большинстве случаев (70%, $n=14$) дети были рождены от матерей с неосложненным акушерско-гинекологическим анамнезом, от первой беременности, первых родов (средняя масса при рождении $3319 \pm 400,6$). Наследственность по аллергической патологии с обеих сторон не отягощена. У 10% детей ($n=2$) в анамнезе 1-кратно перенесенный обструктивный бронхит на фоне ОРВИ. Все дети на момент исследования были без катаральных явлений, имели нормальную температуру тела, хорошее самочувствие, аускультативно – пуэрильное дыхание, без дыхательных шумов. Мазок на РСВ в 100% случаев был отрицательным.

Глава IV

**ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА β 2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА И ВОЗРАСТНАЯ
ЭВОЛЮЦИЯ РЕСПИРАТОРНОГО СОПРОТИВЛЕНИЯ И
БРОНХИАЛЬНОЙ ЛАБИЛЬНОСТИ У ДЕТЕЙ С БЛД**

**4.1 Возрастная эволюция респираторного сопротивления и
бронхиальной лабильности у детей с БЛД**

В целом в группе детей с БЛД оценка сопротивления дыхательных путей техникой прерывания была результативно проведена у 65% обследуемых (n=26), среднее значение абсолютного показателя Rint (Rint абс.) на выдохе составило $0,99 \pm 0,4$ kPa/l/s (Rint% - $119,5 \pm 48,6\%$). Крик, плач, задержка дыхания, наличие сопутствующей тяжелой неврологической симптоматики затрудняли результативное выполнение данного теста у 100% детей, поэтому результаты этих тестов не учитывались в анализе.

Таблица 4.1

Показали респираторного сопротивления и пробы с бронхолитиком у детей с БЛД

Дети с результативно проведенным Rint тестом на выдохе, n=26	Доля детей, %	Среднее значение Rint абс. (kPa/l/s)	Дети с результативно проведенной бронхолитической пробой (Rint/Post) доля детей (%) / количество (n)	Дети с положительной бронхолитической пробой (RintPost) доля детей (%) / количество (n)	Среднее значение Rint/Post (kPa/l/s)
с исходным нормальным значением Rint, n=11	43*	$0,63 \pm 0,08$	82 / 9	22 / 2	$0,4 \pm 0$

с исходным повышенным значением Rint, n=15	57*	1,31±0,3	87 / 13	77 / 10	0,77±0,36
--	-----	----------	---------	---------	-----------

* $p < 0,05$ – в сравнении с группой здоровых доношенных детей

По данным таблицы 4.1 повышенный исходный Rint регистрировался у 57% детей (против 15% - у здоровых детей, $p=0,003$) и составил $1,31 \pm 0,3$ kPa/l/s ($163,7 \pm 34,7\%$), проба с бронхолитиком была результативно проведена в 87% случаев ($n=13$) и у 77% детей ($n=10$) была положительной (Rint Post составил $0,77 \pm 0,36$ Pa/l/s). Все дети с повышенный исходный Rint получали терапию будесонидом от 0,5 до 1,25 г/сутки и половина детей (53%) комбинированный бронхолитический препарат - беродуал.

Дети с нормальным исходным значением Rint на выдохе составили 43% ($n=11$), среднее его значение было равно $0,63 \pm 0,08$ kPa/l/s ($75,5 \pm 12,0\%$). Проба с бронхолитиком была результативно проведена в 64% случаев ($n=7$) и у двоих детей (28%) была положительной. Дети с нормальным исходным Rint терапию будесонидом получали только в 36% случаев ($n=4$).

В целом в группе с БЛД примерно с одинаковой частотой регистрировался Rint нормальный и повышенный (43% и 57% соответственно, $p=0,6$). Важным фактом можно считать, что у 3/4 детей с повышенным сопротивлением воздухоносных путей отмечалась положительная проба с бронхолитиком (Rint Post). Это, с одной стороны, подтверждает необходимость проведения бронхолитической терапии; с другой стороны, говорит о том, что есть случаи, при которых на фоне повышенного сопротивления отмечается малообратимая обструкция.

В группе здоровых детей Rint на выдохе был результативно проведен у 100% обследуемых ($n=20$) и среднее значение Rint абс. на выдохе составило $0,62 \pm 0,2$ kPa/l/s (Rint% - $91,9 \pm 39,7\%$). Среднее значение повышенного исходного Rint абс.= $0,9 \pm 0,04$ kPa/l/s (Rint% - $112 \pm 3,6\%$). Исходное нормальное значение Rint

регистировалось в 85% случаев, среднее значение Rint абс. составило $0,61 \pm 0,08$ (Rint% - $66 \pm 20\%$). Детям в 100% случаев была проведена проба с бронхолитиком и только у 6% детей проба была положительной ($\chi^2=9,03$, $p=0,003$ по сравнению с детьми с БЛД), причем при исходном нормальном значении Rint чаще отмечалась парадоксальная реакция на бронхолитик, так среднее значение Rint Post было выше исходного $0,9 \pm 0,4$ kPa/l/s, см таблицу 4.2.

Таблица 4.2

Показали респираторного сопротивления (Rint) и пробы с бронхолитиком (RintPost) у здоровых детей

Дети с результативно проведенным Rint (n=20)	% детей	Среднее значение Rint (kPa/l/s)	Дети с результативно проведенной бронхолитической пробой (Rint/Post) доля детей(%) / количество (n)	Дети с положительной бронхолитической пробой (Rint/Post) доля детей(%) / количество (n)	Среднее значение Rint/Post (kPa/l/s)
с исходным нормальным значением Rint (n=17)	85	$0,61 \pm 0,08$	100 / 17	6 / 1	$0,9 \pm 0,4$
с повышенным значением Rint (n=3)	15	$0,9 \pm 0,04$	100 / 3	0	$1,1 \pm 0,3$

Сравнивая показатели респираторного сопротивления и пробы с бронхолитиком у детей с БЛД в разные возрастные периоды, нами было получено, что Rint абс.(%) увеличивается по мере роста ребенка, достигая пика

при СВ от 4 до 9 месяцев, затем начинает снижаться, практически достигая уровня здоровых детей, сопоставимых по возрасту (см. таблицу 4.3). С возрастом уменьшается выраженность бронхолитического ответа: с -35,5% (у детей со СВ до 3,5 месяцев) до -17% (у детей со СВ от 9 до 21 месяца), но не достигает показателя доношенных детей этого возраста (см. таблицу 4.3).

Таблица 4.3

Возрастная эволюция респираторного сопротивления Rint (абс. и %) и пробы с бронхолитиком (Rint Post) у детей с БЛД (M±σ, Me[10;90])

показатель	1 подгруппа, СВ от 0 до 3,5 месяцев, n=11	2 подгруппа, СВ от 4 до 8,5 месяцев, n=12	3 подгруппа, СВ от 9 до 21 месяца, n=17	практически здоровые дети, n=20
Rint абс., кПа/l/s	1,0±0,5 0,9 [0,6;1,8]	1,2±0,4 ** 1,3 [0,6;1,65]	0,8±0,2 0,7 [0,6;1,3]	0,6±0,2 0,6 [0,45;0,9]
Rint (%)	146±64,5* 154 [61;237]	136,1±44,3** 139,5 [68;180]	111,6±45,7 93 [73;192]	91±39,7 94 [53;136]
Rint Post абс., кПа/l/s	0,7±0,3 0,6 [0,35;1,1]	0,8±0,3 0,7 [0,6;1,3]	0,93±0,35 0,9 [0,4;1,5]	0,95±0,4 0,9 [0,4;1,3]

Rint Post (%)	-26,3±54,4 -35,5 [-75;48]	-13,2±51 -25 [-59;81]	-10,7±32,9 -17 [-63;32]	32±53 43,5 [-18;88]
---------------	---------------------------------	-----------------------------	-------------------------------	---------------------------

* $p=0,042$ (1 и 3 подгруппы),

** $p=0,023$ (2 и 3 подгруппы)

У детей с БЛД из первых двух подгрупп показатели Rint (абс. и %) были достоверно выше по сравнению с детьми 3 подгруппы старших по возрасту, см. таблицу 4.3. Сравнивая значения Rint абс. у здоровых детей и у детей с БЛД из 3 подгруппы с помощью Манн-Уитни теста, достоверной разницы мы не нашли ($p=0,25$), см. рисунок 4.1.

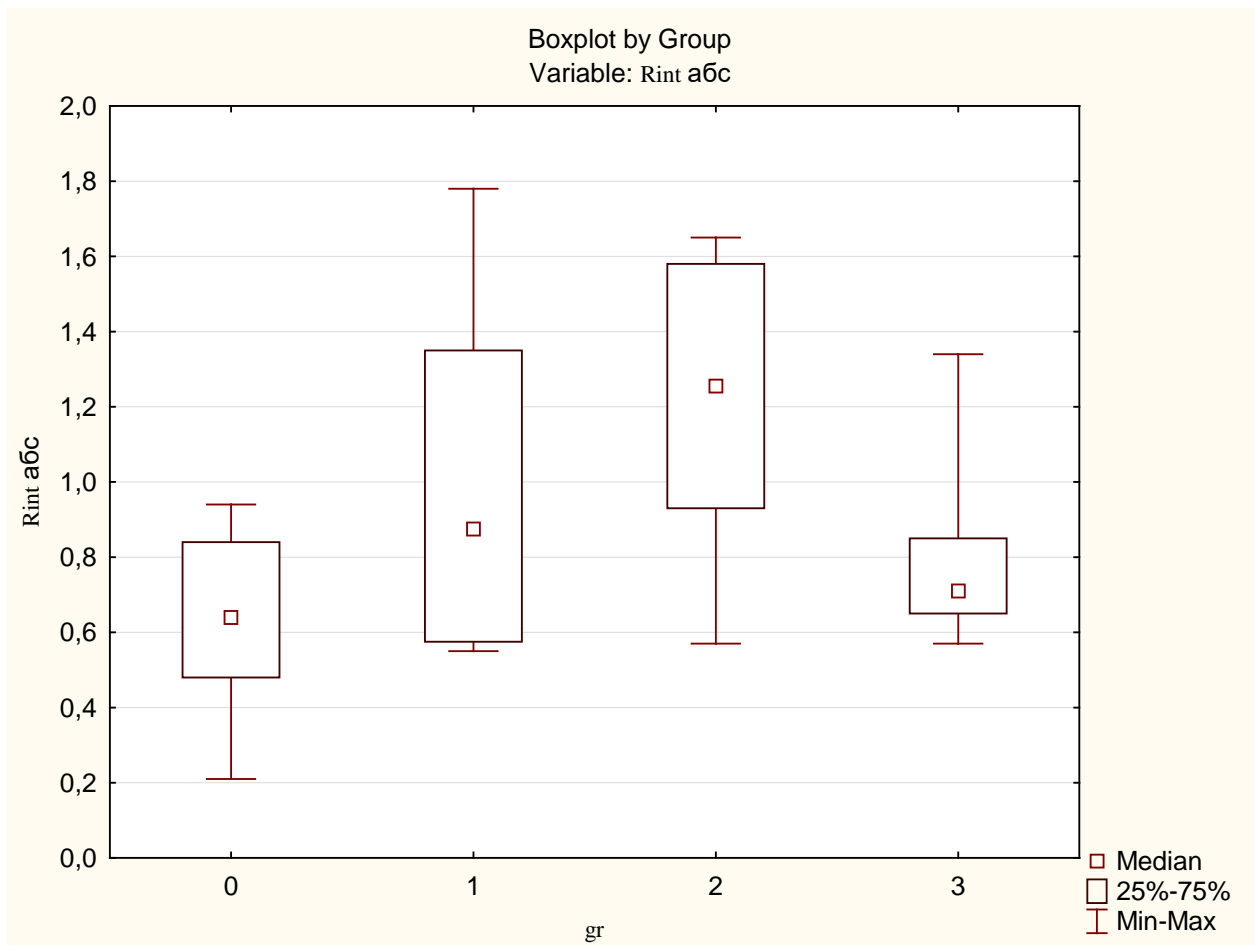


Рисунок 4.1 Значения показателя Rint абс. на выдохе в группе здоровых детей и в трех подгруппах детей с БЛД

В тоже время при сравнении ответа на бронхолитик (Rint Post%) с помощью медианного теста Манн-Уитни, достоверно ниже (U-TEST, $p=0,046$) Rint Post% регистрировался у детей с БЛД 3 подгруппы по сравнению со здоровыми, см. рисунок 4.2.

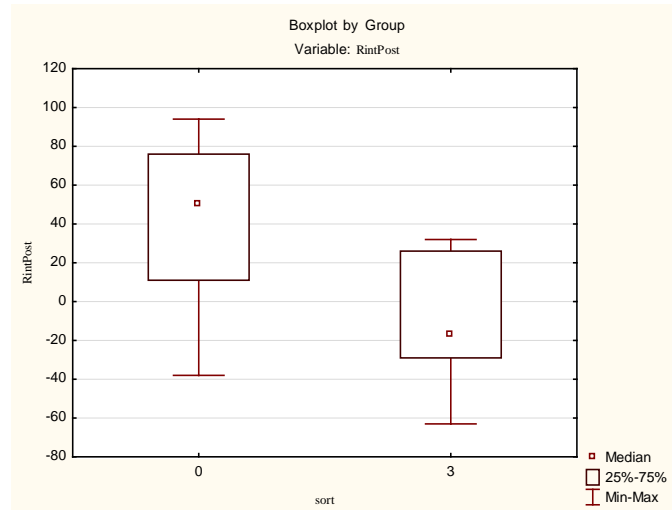
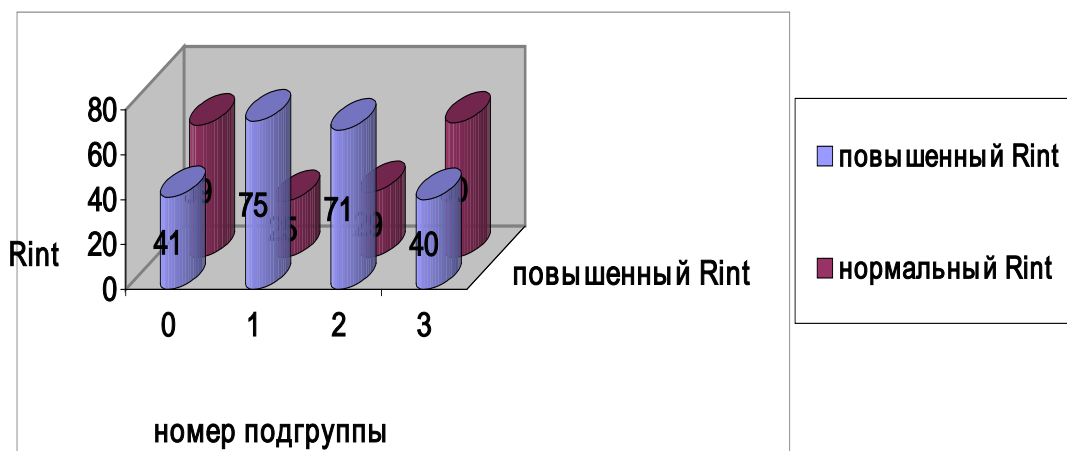


Рисунок 4.2 Значения Rint Post% в группе здоровых детей и детей с БЛД 3 подгруппы

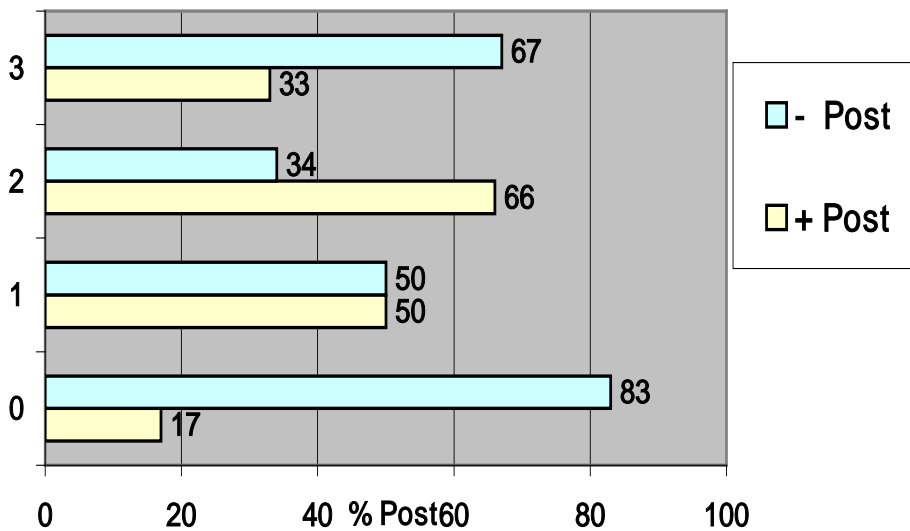
Доля повышенных значений Rint абс. и положительной пробы с бронхолитиком (+RintPost) у детей с БЛД в разных возрастных подгруппах представлена на рисунке 4.3 и 4.4.



$p_{1-2}=0,6$; $p_{1-3}=0,04^*$; $p_{2-3}=0,04^*$; $p_{0-3}=0,6$

Рисунок 4.3 Доля повышенных исходных значений Rint абс. и % у детей с БЛД в разных подгруппах: 0 – здоровые дети, 1 – дети с БЛД 1 подгруппы, 2 – дети с БЛД 2 подгруппы, 3 – дети с БЛД 3 подгруппы.

Из представленных данных следует, что у детей с БЛД 1 и 2 подгрупп (СВ 0-3,5 месяцев и от 4 до 8,5 месяцев соответственно) доля повышенных значений исходного Rint абс. (%) достоверно выше ($p_{1-3}=0,04$, $p_{2-3}=0,04$) по сравнению с более старшими детьми с БЛД из 3 подгруппы (СВ от 9 до 21 месяца), при этом доли повышенных значений Rint абс.(%) в 3 подгруппе сопоставимы со здоровыми детьми ($p_{0-3}=0,6$).



$p_{1-2}=0,6$; $p_{1-3}=0,07$; $p_{2-3}=0,04^*$; $p_{0-3}=0,04^*$

Рисунок 4.4 Доля положительной пробы с бронхолитиком (+ Rint Post) у детей с БЛД в разных подгруппах: 0 – здоровые дети, 1 – дети с БЛД 1 подгруппы, 2 – дети с БЛД 2 подгруппы, 3 – дети с БЛД 3 подгруппы.

Доля детей с положительной пробой на бронхолитик достоверно выше во 2 подгруппе детей с БЛД по сравнению с детьми из 3 подгруппы ($p_{2-3}=0,04$). У детей с БЛД 3 подгруппы данный показатель остается достоверно выше ($p_{0-3}=0,04$), чем у здоровых детей, сопоставимых по возрасту.

Таким образом, у детей с БЛД до 9 месяцев скорректированного возраста отмечается повышенное респираторное сопротивление и выраженный ответ на бронхолитик, что свидетельствует о меньшем просвете дыхательных путей и повышенной их реактивности. По мере роста ребенка увеличивается поперечное сечение дыхательных путей, что отражается на снижении показателя исходного R_{int} и выраженности ответа на бронхолитик. Но доля детей с повышенной реактивностью дыхательных путей остается высокой в группе детей с БЛД и не достигает показателей здоровых.

4.2 Частота встречаемости полиморфизмов Arg16Gly, Gln27Glu гена β 2-адренорецептора у детей с БЛД и их влияние на респираторное сопротивление, ответ на бронхолитик и течение заболевания

Сравнивая частоту встречаемости двух полиморфизмов гена β 2-адренорецептора (ADRB2) с заменой в 16 и 27 положениях среди здоровых детей, ($n=59$), нами было установлено, что достоверно чаще ($z=2,2$; $p=0,027$) встречалась замена Arg16Gly (25,5%) по сравнению с Gln27Glu (8,5%). На диаграмме 4.1 можно заметить, что у здоровых детей достоверно ($p<0,05$) превалирует гетерозиготный генотип в 16 положении над гомозиготным вариантом с заменой аминокислоты (полиморфизм) и без таковой в этом положении. Что касается полиморфизма Gln27Glu, он также достоверно реже ($p<0,05$) встречается в сравнении с двумя другими вариантами, см. рисунок 4.5.

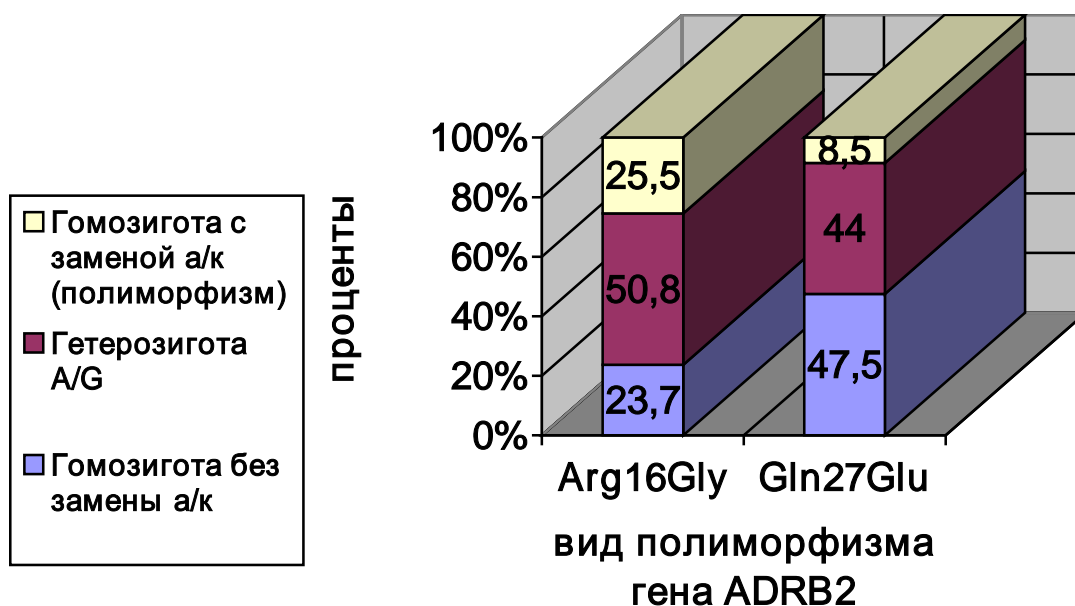


Диаграмма 4.5 Частота встречаемости полиморфизмов Arg16Gly, Gln27Glu гена ADRB2 у здоровых детей (n=59)

Частота встречаемости полиморфизмов Arg16Gly, Gln27Glu гена ADRB2 у детей с БЛД (n=40) представлена на диаграмме 4.6. Полиморфизм Arg16Gly встречался у 40% детей, полиморфизм Gln27Glu – у 27,5% детей с БЛД, без достоверной разницы ($p > 0,5$) в обоих случаях с двумя другими возможными вариантами: гетерозиготным генотипом и гомозиготным вариантом без замены аминокислоты, см. рисунок 4.6.

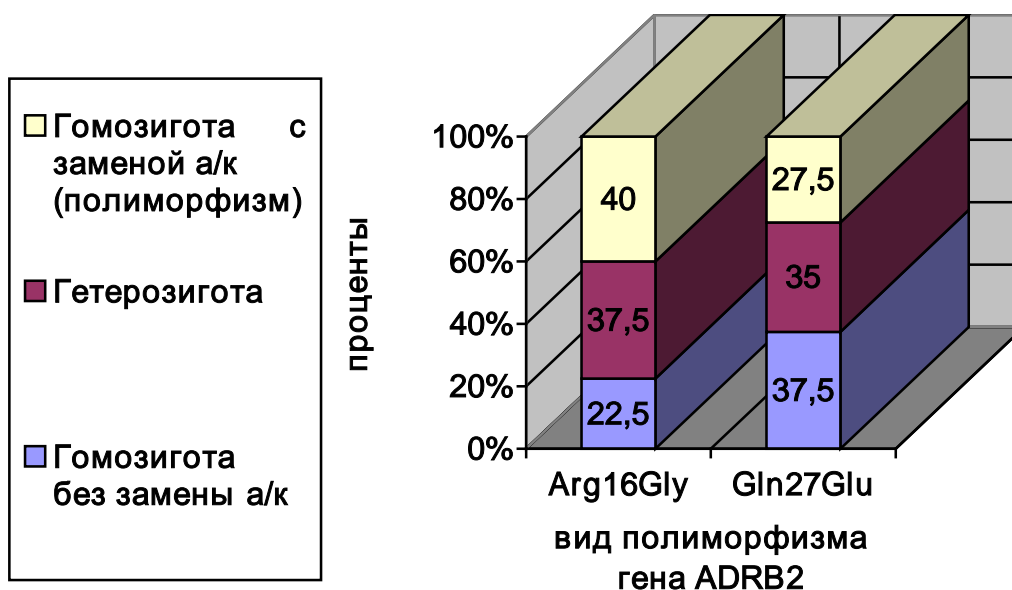


Диаграмма 4.6 Частота встречаемости полиморфизмов Arg16Gly, Gln27Glu в гене ADRB2 у детей с БЛД (n=40)

Сравнивая частоту встречаемости по двум полиморфизмам: Arg16Gly и Gln27Glu среди детей с БЛД (n=40) и здоровых детей (n=59), мы получили, что полиморфизм Gln27Glu достоверно чаще встречается в группе детей с БЛД, чем у здоровых (27,5% против 8,5% соответственно, $z=2,2$, $p=0,025$), см. диаграмму 4.7 и таблицу 4.4.

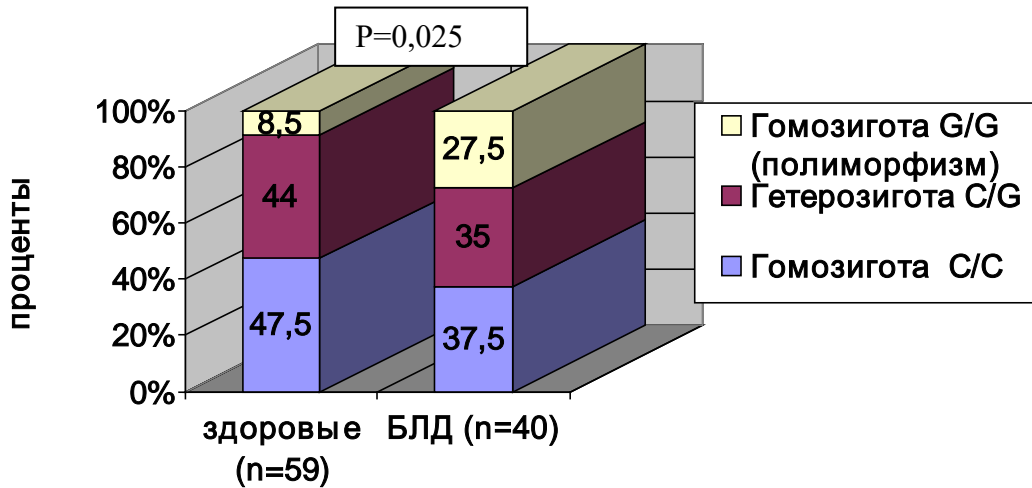


Диаграмма 4.7 Частота встречаемости полиморфизма Gln27Glu гена ADRB2 у детей с БЛД

Таблица 4.4

Частота встречаемости полиморфизма Gln27Glu гена ADRB2 у детей с БЛД (n=40), абс. (%)

Варианты гена ADRB2 в 27 положении	Группы детей	
	БЛД (n=40)	Здоровые (n=59)
Гомозигота (полиморфизм) Gln/Gln	11 (27,5)*	5 (8,5) *
Гетерозигота Glu/Gln	14 (35)	26 (44)
Гомозигота Glu/Glu	15 (37,5)	28 (47,5)

* $p < 0,05$

В то время как для полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2, достоверно такой закономерности не было выявлено: 25,5% - у здоровых против 40% - у детей с БЛД, $z=1,3$, $p=0,2$, см. таблицу 4.5.

Таблица 4.5

Частота встречаемости полиморфизма Arg16Gly гена ADRB2 у детей с БЛД (n=40), абс. (%)

Варианты гена ADRB2 в 16 положении	Группы детей	
	БЛД (n=40)	Здоровые (n=59)
Гомозигота (полиморфизм) Gly/Gly	16 (40)	15 (25,5)
Гетерозигота Arg/Gly	15 (37,5)	30 (50,8)
Гомозигота Arg/Arg	9 (22,5)	14 (23,7)

Таким образом, замена Gln27Glu встречается в 3 раза чаще у детей с БЛД по сравнению со здоровыми доношенными детьми. Обращает на себя внимание то, что полиморфизм Gln27Glu ни у здоровых детей, ни у детей с БЛД изолированно без Arg16Gly не встречается. Обе эти находки аналогичны исследованию этих же полиморфизмов у детей, страдающих бронхиальной астмой (БА) [34].

Анализ частоты встречаемости двух полиморфизмов в зависимости от формы БЛД показал, что оба полиморфизма встречались чаще у детей с классической формой (n=20). Полиморфизм Arg16Gly встречался в 45% случаев при классической БЛД против 33% при новой форме заболевания (Chi-square (B/C)=0,94, $p=0,3$). Для полиморфизма Gln27Glu – в 35% против 18% случаев соответственно (Chi-square (B/C)=5,06, $p=0,02$). Таким образом, полиморфизм Gln27Glu при классической форме БЛД встречается достоверно в 2 раза чаще; этот факт нужно учитывать при этапном ведении этой когорты пациентов.

Анализируя частоту встречаемости Arg16Gly гена ADRB2 при средней степени тяжести БЛД и тяжелой, мы получили, что полиморфизм Arg16Gly встречался примерно с одинаковой частотой: в 50% случаев (n=16) – при средней тяжести против 41% (n=17) – при тяжелой БЛД (McNemar=0,06, $p=0,8$). Замена

Gln27Glu превалировала у детей, имевших БЛД средней степени тяжести по сравнению с детьми с тяжелой БЛД - 37,5% и 18%, соответственно (Chi-square (B/C)=3,5, p=0,06).

Анализ частоты встречаемости полиморфизмов в зависимости от периода заболевания, в который ребенок поступил в отделение пульмонологии, показал, что полиморфизм Gln27Glu достоверно чаще регистрировался у детей с БЛД, поступивших в период обострения, чем вне такового: 35% против 15%, соответственно (McNemar=5,06, p=0,02). Для полиморфизма Arg16Gly - 45% против 30%, соответственно (McNemar=0,7, p=0,4). Таким образом, генетическая составляющая, возможно, вносит свой вклад в развитие обострений при БЛД. Краткая сравнительная таблица представлена ниже, см. таблицу 4.6.

Таблица 4.6

Частота встречаемости двух полиморфизмов в зависимости от формы, степени тяжести и периода БЛД

Сравниваемый признак	Варианты признака	Доля детей с заменой Arg16Gly	Chi-square (A/D, B/C)	Доля детей с заменой Gln27Glu,%	Chi-square (A/D, B/C)
Форма БЛД	Классическая (n=20)	45%	0,3	35%	0,02*
	Новая (n=18)	33%		18%	
Степень тяжести БЛД	Средняя (n=16)	50%	0,8	37,5%	0,02*
	Тяжелая (n=17)	41%		18%	
Период заболевания, в который	Вне обострения (n=20)	30%	0,4	15%	0,02*

ребенок поступил в отделение пульмонологии	Обострение (n=20)	45%		35%	
---	----------------------	-----	--	-----	--

- при $p < 0,05$

Поскольку полиморфизмы гена влияют на функцию кодируемого белка, то неадекватная функция $\beta 2$ -адренорецептора, локализованного в мембране гладкомышечных клеток бронхов, может играть важную роль в контрактильности дыхательных путей. Поэтому мы сравнили исходные значения Rint абс., долю повышенных исходных показателей Rint и долю положительных ответов на бронхолитик (Rint Post) в зависимости от наличия или отсутствия одного и/или двух полиморфизмов (Arg16Gly, Gln27Glu) гена ADRB2 в группе детей с БЛД. Нами было получено, что из 26 детей с БЛД с результативно проведенным Rint у половины детей $n=13$ (50%) был выявлен хотя бы 1 полиморфизм (Arg16Gly, Gln27Glu) гена ADRB2 (при этом у 35%, $n=9$, были выявлены оба полиморфизма совместно). Средний показатель исходного Rint абс. в подгруппе детей с полиморфизмом составил $1,1 \pm 0,4$ kPa/l/s, в подгруппе детей без полиморфизма - $0,88 \pm 0,3$ kPa/l/s, (тест Манн-Уитни, $p=0,2$). Доля повышенных показателей исходного Rint абс. в обеих подгруппах была одинаковой и составила 54%, $n=7$ (McNemar, $p=1,0$). Проба с бронхолитиком была результативно проведена в 77% случаев ($n=10$) у детей с полиморфизмом Arg16Gly гена ADRB2 и в 92% случаев ($n=12$) у детей с БЛД без такового. Доля положительных проб с бронхолитиком (Rint Post) в подгруппе детей с полиморфизмом Arg16Gly/Gln27Glu гена ADRB2 регистрировалась в 20% случаев ($n=2$), ($\chi^2=3,32$, $p=0,07$) против 58% ($n=7$) в подгруппе детей без такового (таблица 4.7 и диаграмма 4.8).

Таблица 4.7

Сравнительная характеристика исходных значений Rint абс. и доли положительной пробы с бронхолитиком (Rint Post) в группе детей с БЛД в зависимости от наличия или отсутствия полиморфизмов Arg16Gly/Gln27Glu гена ADRB2

Показатели Rint/Rint Post	Полиморфизм Arg16Gly и/или Gln27Glu гена ADRB2	
	Присутствует (n=13)	Отсутствует (n=13)
Среднее значение исходного Rint абс., $M \pm \sigma$, kPa/l/s	1,1 \pm 0,4	0,88 \pm 0,3
Доля повышенных значений исходного Rint абс., % (n)	54 (7)	54 (7)
Доля положительной пробы с бронхолитиком (Rint Post), % (n)	20 (2/10) *	58 (7/12) *

*p=0,07

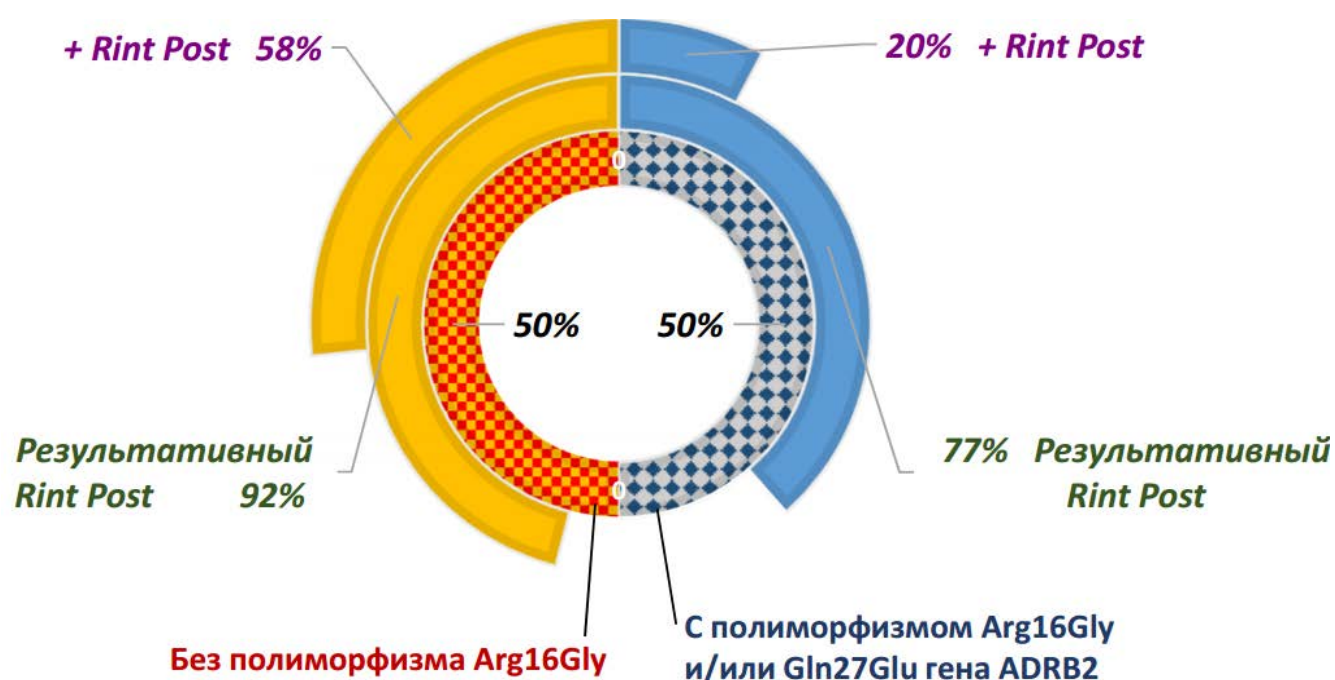


Диаграмма 4.8 Доля положительной пробы с бронхолитиком (Rint Post) в группе детей с БЛД в зависимости от наличия или отсутствия полиморфизмов Arg16Gly и/или Gln27Glu гена ADRB2

Таким образом, установлена частота полиморфизмов гена ADRB2 при БЛД

и определены ассоциации данного полиморфизма с особенностями течения заболевания и состоянием ФВД. Оценка вентиляционной функции и бронхиальной лабильности осуществимы у детей с БЛД с первого года жизни путем определения респираторного сопротивления методом Rint. Установлена эволюция сопротивления дыхательных путей и бронхиальной лабильности в разные возрастные периоды.

Глава V

ВОЗРАСТНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ БИОМАРКЕРОВ ЛЕГОЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ У ДЕТЕЙ С БЛД

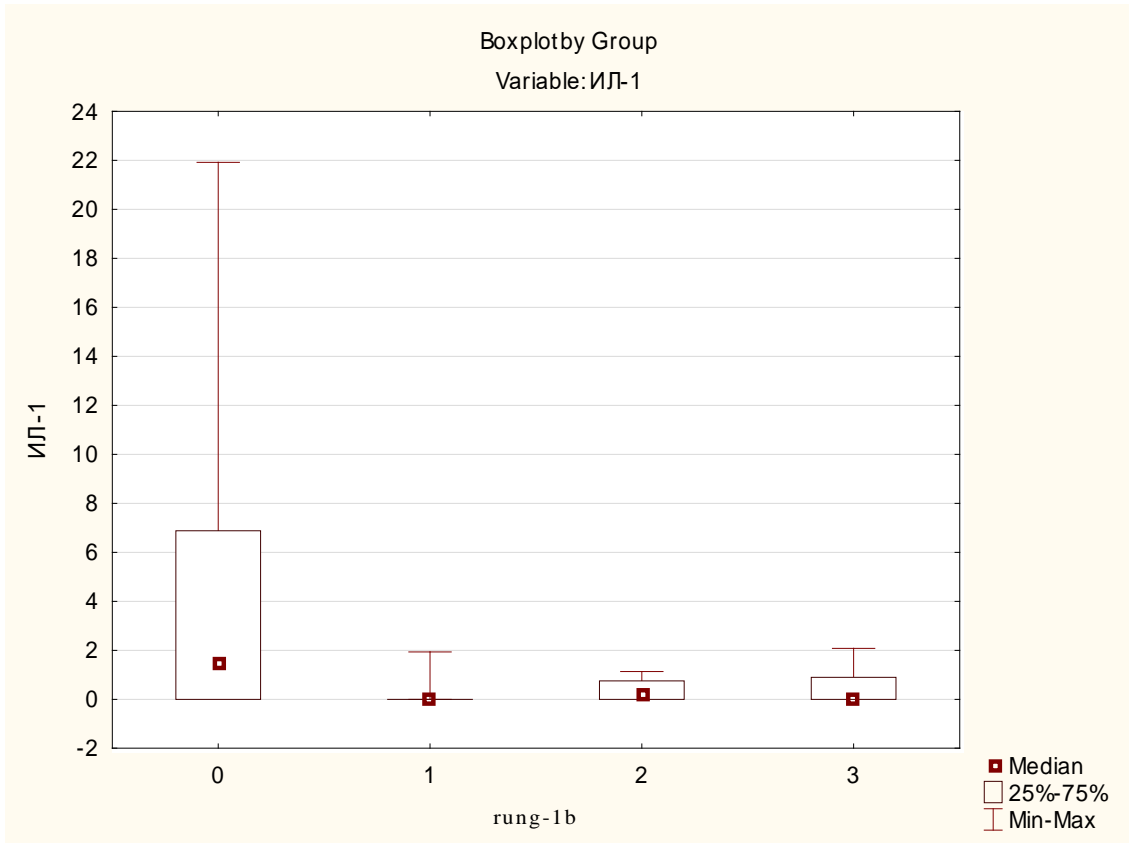
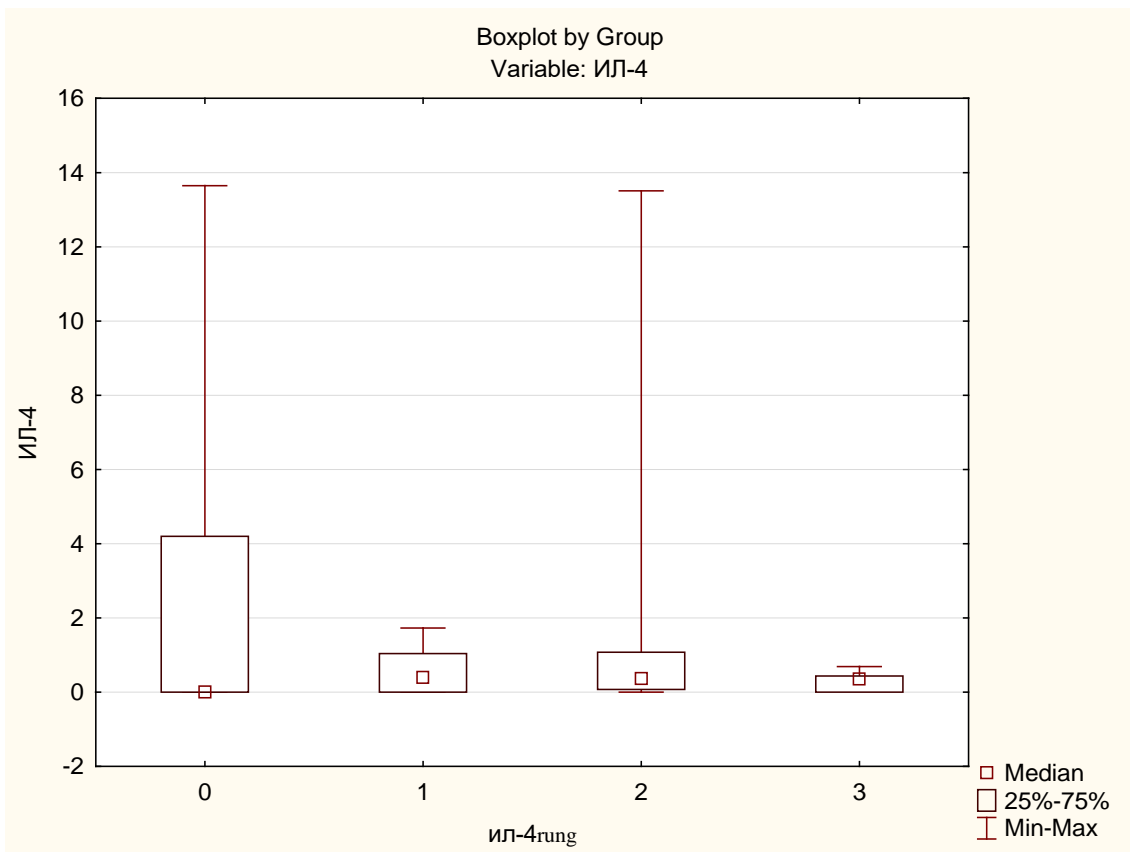
В группе детей с БЛД изучалась степень активности биомаркеров легочного повреждения (ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10, ММР3) в разные возрастные периоды с учетом тяжести течения БЛД. Результаты количественного определения концентраций в плазме крови ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10 и ММР3 у детей с БЛД в разные возрастные периоды и у здоровых детей представлены в таблице 5.1.

Таблица 5.1

Показатели интерлейкинов (ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10) и ММР3 у детей с БЛД и группы сравнения ($M \pm \sigma$, Me[10;90])

Биомаркер	1 подгруппа, СВ 0-3,5 месяцев, n=11	2 подгруппа, СВ 4-8,5 месяцев, n=12	3 подгруппа, СВ 9-21 месяц, n=17	Практически здоровые дети n=15	Медианный тест среди множества независимых групп
ИЛ-1 β пг/мл	0,4 \pm 0,9 0 [0;1,9]	0,4 \pm 0,5 0,2 [0;1,1]	0,6 \pm 0,8 0 [0;2,1]	4,9 \pm 7,3 1,4 [0;21,9]	p=0,2
ИЛ-4 пг/мл	0,6 \pm 0,7 0,4 [0;1,7]	2,1 \pm 4,6 0,4 [0;13,5]	0,3 \pm 0,3 0,4 [0;0,7]	2,8 \pm 4,6 0 [0;13,6]	p=0,9
ИЛ-10 пг/мл	3,5 \pm 78,6 5,7 [0;211,6]	6,5 \pm 6,2 6,1 [0;15,9]	75,3 \pm 218,3 6,6 [0;102]	13,9 \pm 1,0 12,6 [2,9;26,5]	p=0,6
ММР3 нг/мл	7,6 \pm 6,0 4,5 [2,2;16,3]	29,9 \pm 61,7 3,7 [1,2;123,3]	13,0 \pm 22,2 2,9 [1,2;46,8]	6,9 \pm 4,4 5,9 [2,2;13,2]	p=0,2

Достоверных различий по медианному тесту среди множества независимых групп для вышеперечисленных биомаркеров мы не получили, см. рисунок 5.1.

**A****B**

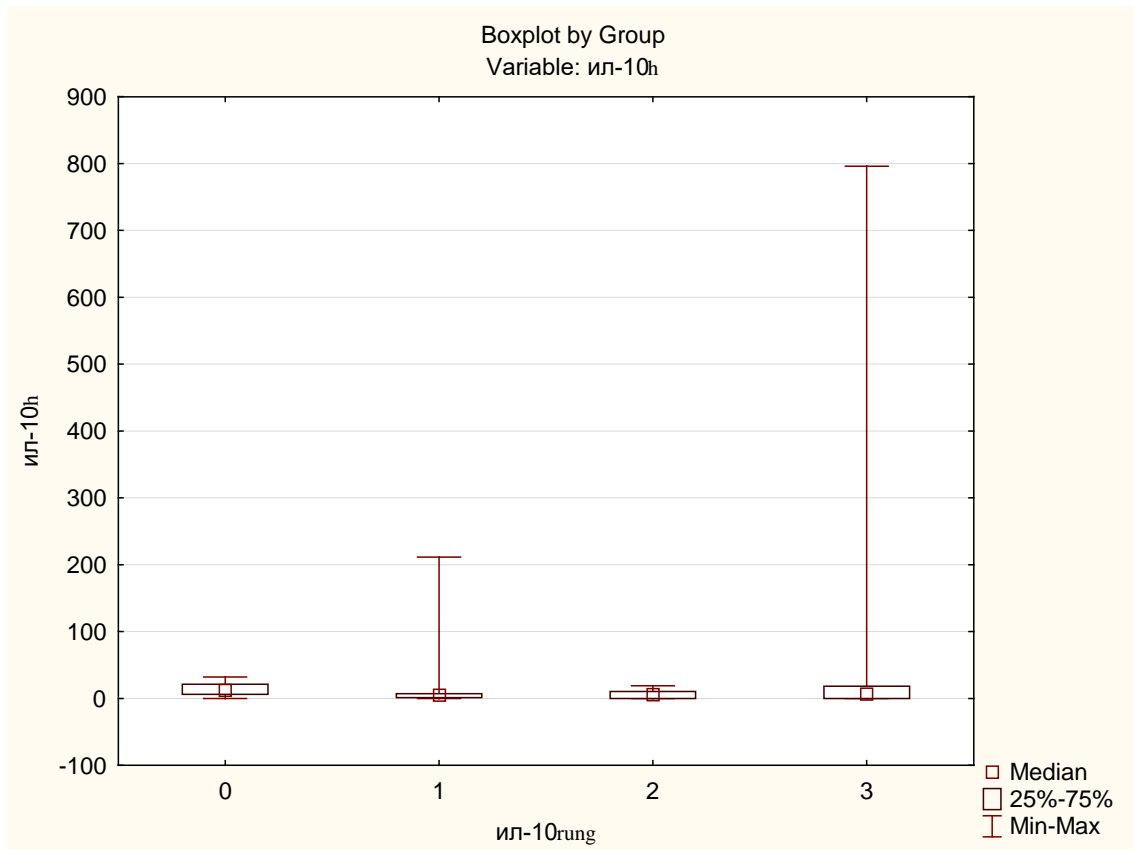
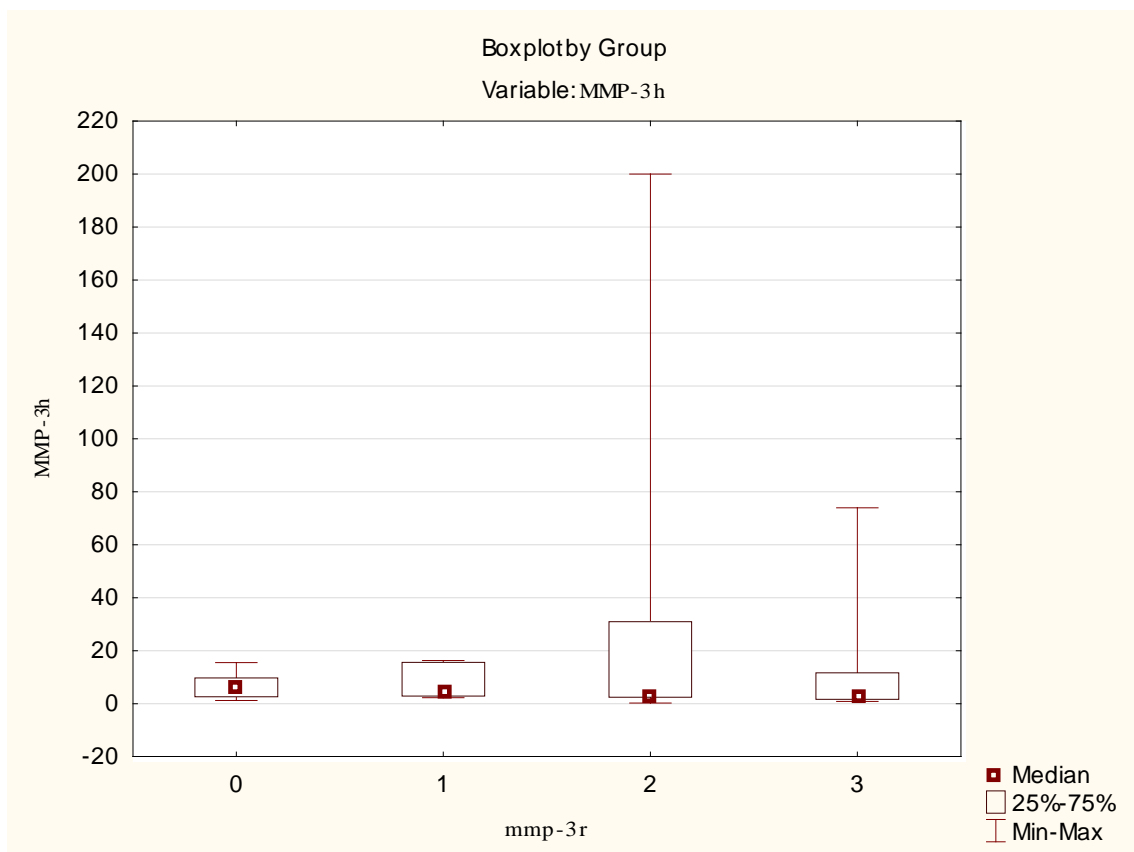
**C****D**

Рисунок 5.1. **А:** уровень ИЛ-1 β , **В:** уровень ИЛ-4, **С:** уровень ИЛ-10, **Д:** уровень ММР-3 в исследуемых группах, где 0 – группа здоровых детей, 1 – дети с БЛД 1 подгруппы, 2 – дети с БЛД 2 подгруппы, 3 – дети с БЛД 3 подгруппы.

При сравнении значений ИЛ-1 β у детей с БЛД в разных возрастных группах обращает на себя внимание то, что во всех группах преобладают пониженные показатели, что, возможно, свидетельствует о незрелости иммунологического ответа у детей с БЛД. Дальнейший анализ полученных результатов указывает на то, что отмечается значительная доля повышенных показателей ИЛ-10 в 1 и 3 подгруппах, ММР3 во 2 и 3 подгруппах в сравнении с группой здоровых детей. За повышенный результат принималось значение более 90 перцентиля в группе здоровых детей, за пониженный - ниже 10 перцентиля в группе здоровых детей, см. таблицу 5.1. Доля повышенных и пониженных результатов для ИЛ-10 была достоверно выше в группе детей с БЛД по отношению к повышенным и пониженным показателям здоровых детей: 25% против 7%, $p=0,002$ и 33% против 7%, $p=0,001$ соответственно, см. рисунок 5.2. При сравнении долей повышенных и пониженных результатов для ММР3 наблюдалось повышенное соотношение в группе детей с БЛД по отношению к здоровым детям в равных долях в обоих случаях (27% к 15%, $p=0,03$), см. рисунок 5.2.

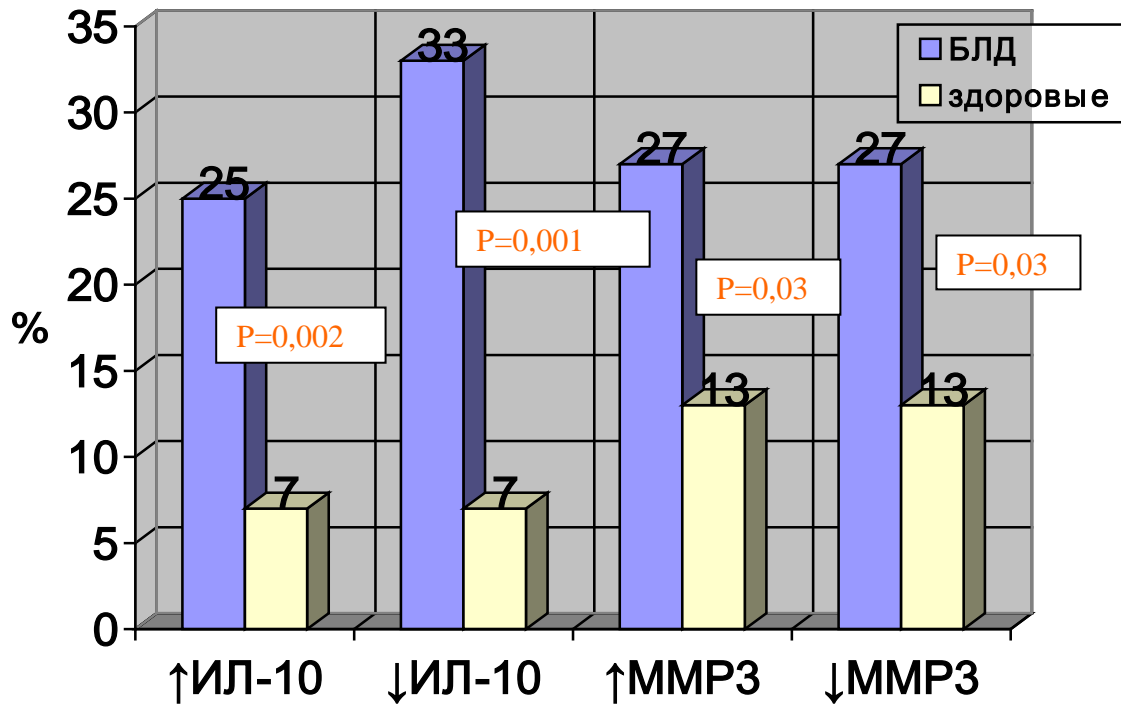


Рисунок 5.2 Доля повышенных (↑) и пониженных (↓) показателей ИЛ-10 и ММР3 в группе детей с БЛД и у здоровых детей.

Оценивая результаты показателей ИЛ-10 и ММР3 у детей с БЛД разной степени тяжести, мы получили данные, представленные на рисунках 5.3 и 5.4. Согласно полученным данным, по мере увеличения степени тяжести возрастает размах между самыми низкими показателями в группе и самыми высокими, хотя достоверных различий по медианному тесту среди множества независимых групп мы не получили ($p=0,17$).

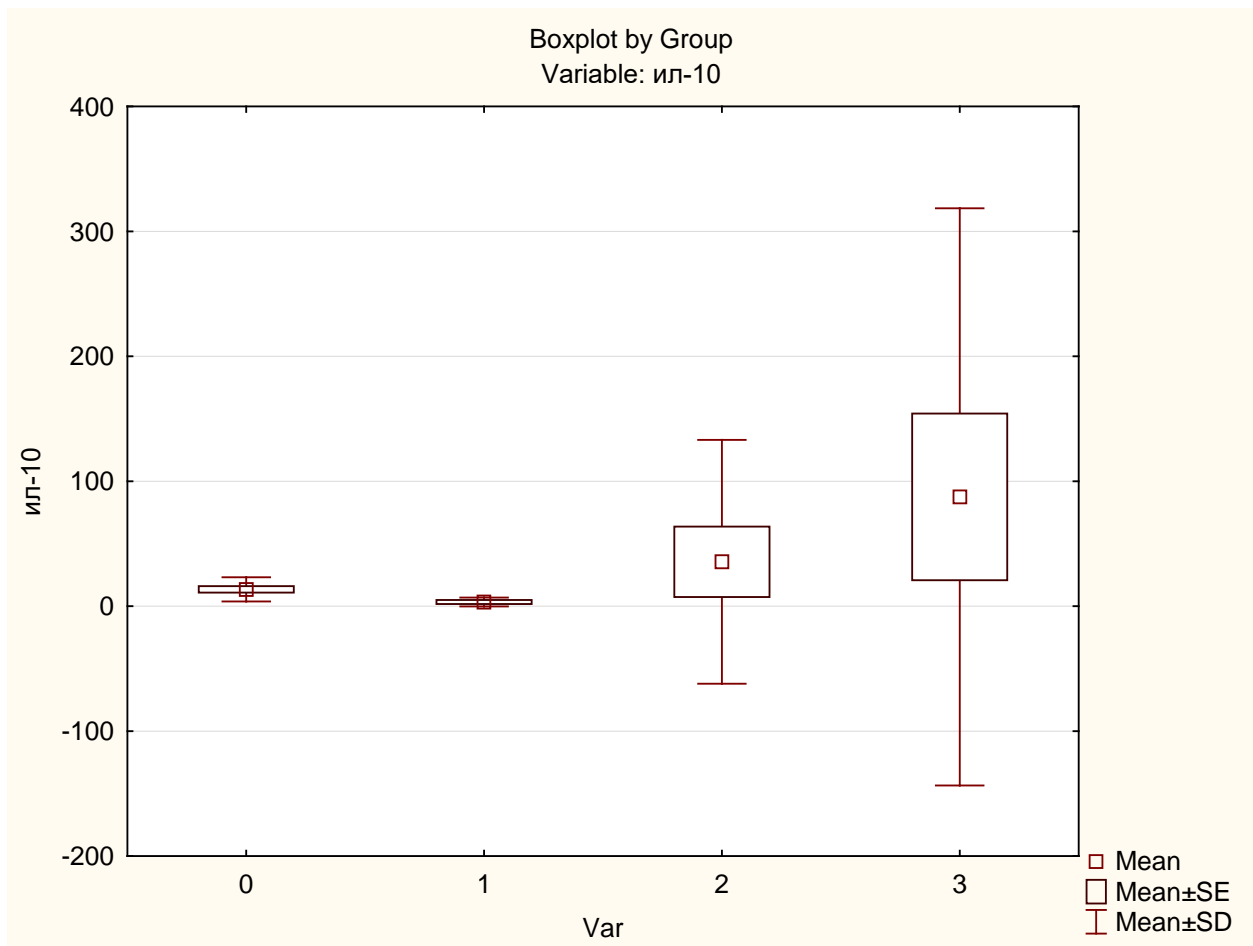


Рисунок 5.3. Результаты показателей ИЛ-10 у детей с БЛД разной степени тяжести, где 0- здоровые дети, 1- БЛД легкой степени тяжести, 2- БЛД средней степени тяжести, 3- БЛД тяжелой степени тяжести.

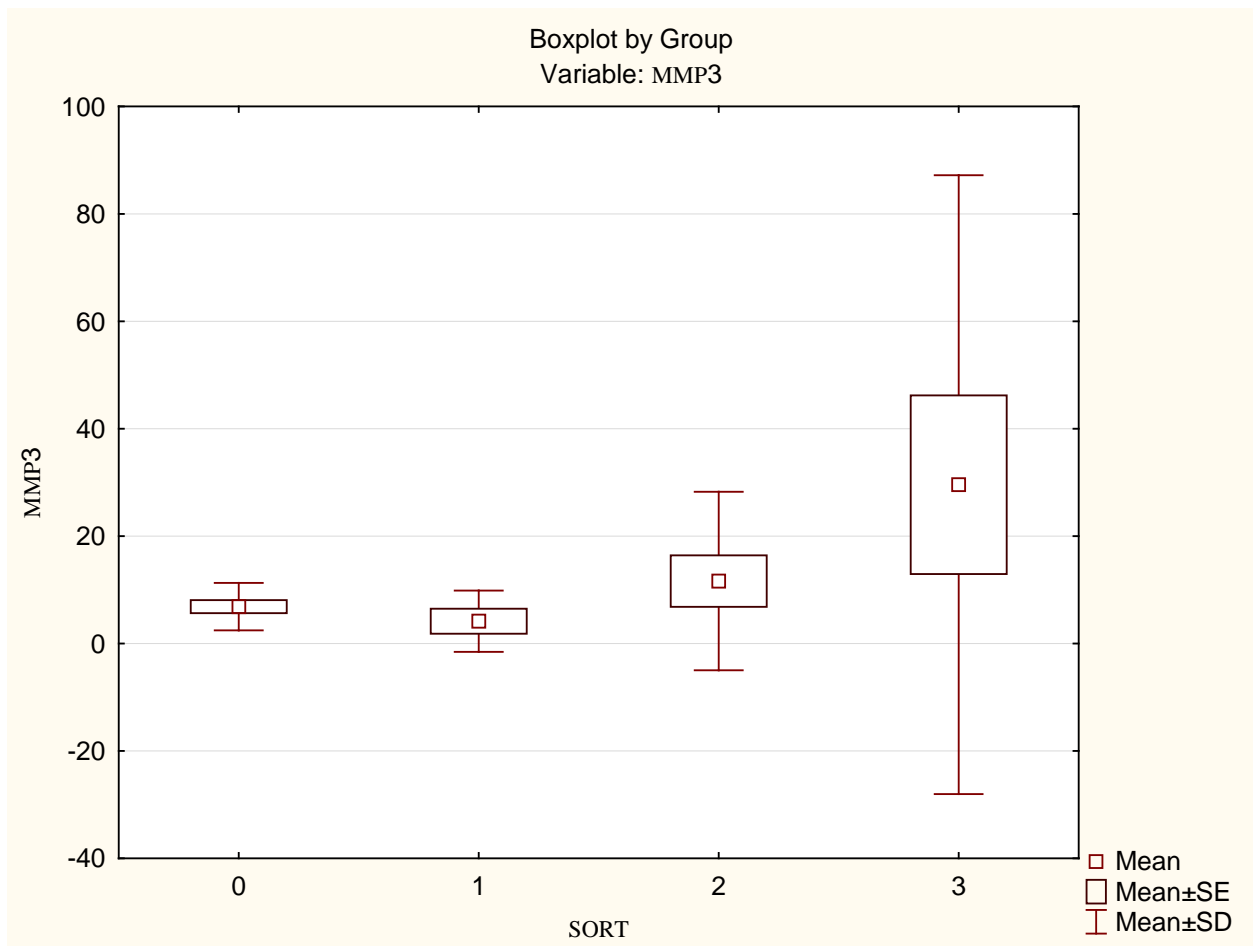


Рисунок 5.4. Результаты показателей MMP3 у детей с БЛД разной степени тяжести, где 0- здоровые дети, 1- БЛД легкой степени тяжести, 2- БЛД средней степени тяжести, 3- БЛД тяжелой степени тяжести.

Таким образом, у детей с легкой степенью БЛД наблюдаются однородные показатели ИЛ-10 и MMP3, сравнимые с результатами данных биомаркеров у здоровых доношенных детей. С увеличением тяжести заболевания возрастает доля детей, показатели которых резко отличаются (в 10 и более раз) от средних показателей в группе здоровых, как в сторону увеличения результатов, так и в сторону их снижения.

В целом по группе БЛД отмечается «мозаичность» изменений уровней ИЛ-10 и MMP3, которая отражает неоднородность показателей биомаркеров и существование различных биомолекулярных фенотипов при БЛД в разных возрастных группах.

Результаты проведенного корреляционного анализа по Спирмену между показателями биомаркеров, возрастом, сроком при рождении, респираторным сопротивлением и ответом на бронхолитик представлены в таблице 5.2.

Таблица 5.2

Корреляционный анализ в группе детей с БЛД.

Группа	Корреляция	Сила (r)
группа БЛД (n=40)	ИЛ-1 β и RintPost абс.	0,66*
1 подгруппа, n=11	СВ и MMP3	0,86*
2 подгруппа, n=12	СВ и Rint (абс., %)	- 0,8*
3 подгруппа, n=17	ГВ и ИЛ-1 β	0,8*

- $p < 0,05$

В целом во всей группе детей с БЛД была установлена прямая связь между ИЛ-1 β и Post ($r=0,66$, $p < 0,05$), см. таблицу 5.2. Согласно полученным данным, чем выше уровень провоспалительного маркера ИЛ-1 β , тем более выражен ответ на бронхолитик. Это может указывать на то, что чем выше уровень воспаления, маркером которого является ИЛ-1 β , тем более выражен вклад бронхоконстрикции.

У детей из 1 подгруппы выявлена корреляция между СВ и MMP3 ($r=0,86$, $p < 0,05$), см. рисунок 5.1. Таким образом, чем больше СВ, тем выше значение биомаркера, это подтверждают литературные данные, о том, что пик продукции MMP3 приходится на первые три-шесть месяцев после рождения и может косвенно свидетельствовать об инициации процессов фиброзирования легочной ткани [135].

Во 2 подгруппе определена корреляция между СВ и Rint абс.(%) в виде отрицательной связи ($r=-0,8$, $p < 0,05$), что можно объяснить тем, что по мере роста ребенка, увеличивается диаметр просвета дыхательных путей, поэтому сопротивление дыхательных путей уменьшается.

В третьей подгруппе выявлена прямая взаимосвязь между гестационным возрастом (ГВ) и ИЛ-1 β ($r=0,8$, $p<0,05$). Возможно, это объясняется тем, что у более зрелого ребенка, наблюдается более адекватный ответ на воспаление.

В качестве иллюстрации полученных результатов нашего исследования приводим два клинических примера.

Клинический случай №1.

Мальчик N. в 9 месяцев (СВ 6,5 месяцев) переведен в отделение пульмонологии Краевой детской клинической больницы г. Перми в состоянии средней тяжести с диагнозом: БЛД, новая форма, средней степени тяжести, обострение. Внебольничная двухсторонняя верхнедолевая пневмония, осложненная бронхообструктивным синдромом, ДН III ст, ателектазом верхней доли правого легкого. Из анамнеза: ребенок от 2 беременности (1 беременность замершая), протекавшей на фоне угрозы прерывания беременности с ранних сроков, анемии I ст, ОАГА – хламидийная инфекция санированная. Роды первые преждевременные - в сроке 30 недель, оперативные - экстренное кесарево сечение в связи с отслойкой плаценты. Ребенок родился с массой тела 1510 г, ростом 42 см, оценкой по шкале APGAR 4/5 баллов. Состояние после рождения тяжелое в связи с нарастанием дыхательной недостаточности (ДН) на фоне респираторного дистресс синдрома (РДС) и внутриутробной пневмонии. Ребенок интубирован, введен курсурф эндотрахеально (240 мг), через 10 часов повторно (120 мг), респираторная поддержка: ИВЛ (FiO-40%) – 18 дней, затем СРАР - 23 дня, затем увлажненный кислород через маску - 2 месяца (срок кислородозависимости составил 3,5 месяца). На НСГ на третьей неделе жизни - множественные перивентрикулярные кисты в области переднего рога тела правого бокового желудочка. На ЭХО-КГ: гемодинамически незначимый функционирующий открытый артериальный проток (ФАП). Ребенок выписан из отделения недоношенных перинатального центра с диагнозом - БЛД, новая форма, средней степени тяжести. Осложнения: ДН 3 степени. ССН 1-2 ст. ФАП гемодинамически незначимый. Анемия тяжелой степени (состояние после гемотрасфузий – 3-хкратно). Сопутствующий диагноз: внутриутробная верхнедолевая пневмония слева (токсоплазма). ПП ЦНС тяжелой степени, синдром угнетения. Ребенок был

выписан на базисной терапии будисонидом 500 мкг/сутки. В возрасте 7 месяцев на фоне ОРВИ был эпизод бронхообструкции, ребенок получал ингаляционную терапию беродуалом, суточная доза будесонида была увеличена до 750 мкг/сутки.

В 8,5 месяцев ребенок поступил в педиатрическое отделение с жалобами на повышение температуры тела до 38,5° С, насморк, кашель, в течение 2-х суток у ребенка наблюдалось нарастание одышки, усиление явлений бронхообструкции, падение SaO₂ до 86%. Далее мальчик был переведен в ОРИНТ, где находился в тяжелом состоянии на ИВЛ 6 суток (FiO₂-70-60%, PIP- 24, SaO₂ - 86-90%), затем СРАР 1 сутки, затем 7 суток увлажненный кислород через маску. Ребенок получал антибиотикотерапию меронемом, эдицином; ингаляционную терапию суспензией пульмикорта 1000 мкг/сутки, бронхолитиком - беродуалом. При обследовании иммунохроматографическим методом на РСВ – результат положительный. Позднее ребенок находился в отделении пульмонологии на дальнейшем лечении и обследовании. При поступлении в отделение пульмонологии состояние ребенка было расценено, как среднетяжелое, стабильное, находился на спонтанном дыхании атмосферным воздухом, в периоды падения сатурации получал кислород через маску 2 л/мин. Кожные покровы бледные с выраженной мраморностью. Подкожная клетчатка развита достаточно (масса 7кг 700 г, рост 70 см). Грудная клетка правильной формы, симметрично участвует в акте дыхания, с незначительным втяжением межреберий, частота дыхания 42 в минуту. Ребенок самостоятельно не сидит. В легких дыхание проводится неравномерно, ослаблено в области верхушек легких с обеих сторон, единичные сухие рассеянные хрипы по всей поверхности легких. На ЭХО-КГ без признаков легочной гипертензии, ООО – 2,0 мм. Дополнительная хорда левого желудочка.

В период стабилизации состояния: на спонтанном дыхании атмосферным воздухом, SaO₂-96%, при нормализации аускультативной картины: пуэрильное дыхание, без хрипов, ребенку было проведено обследование: взята кровь на полиморфизмы Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 – результат: гетерозиготное состояние по обоим полиморфизмам, определены биомаркеры: ИЛ-10 -12,6 пг/мл, ИЛ-1β -1,2 пг/мл, ИЛ-4 -0 пг/мл, MMP3 -2,5 нг/мл – все показатели в пределах

нормы по сравнению со здоровыми доношенными детьми. Определено респираторное сопротивление (Rint) и проведена проба с бронхолитиком (Rint Post). Результаты: сопротивление дыхательных путей было в норме Rint абс.=0,57 кПа/л/с (долженствующий показатель при росте 70 см должен быть $\leq 0,85$ кПа/л/с), таким образом, Rint% составляет 66% от максимально долженствующего показателя). RintPost абс. составил 0,77 кПа/л/с, что соответствовало RintPost% +35%, таким образом, проба с бронхолитиком была отрицательной, см. рисунок 5.5.

MicroLoop Rint v 1.04 Page 1 of 1

Furman E.G.
Zhdanovich

21.05.14

I.D: 00000001 Sex: Male Age: 11
 Height: 70cm Weight: 7kg BMI: 14.3

Baseline Date 35/02/25 Time 33:35
 Post 1 Date 35/02/25 Time 33:35

Test no	---Baseline---		---Post1---		---Post2---	
	Resistance kPa/l/s	Flow l/s	Resistance kPa/l/s	Flow l/s	Resistance kPa/l/s	Flow l/s
1	0.68	0.12	0.27	0.03		
2	0.23	0.22	0.77	0.45		
3	0.57	0.08	0.81	0.21		
4	0.12	0.12	1.59	0.08		
5	4.19	0.02	0.40	0.06		

Median baseline 0.57kPa/l/s
 Predicted N/A
 Median post 1 0.77kPa/l/s
 Percentage predicted N/A
 Percentage change 35%

Notes: *сопротивление ртх путей в н (66%)*
проба с бронхолитиком отрицат. (35%)

Technician: _____ Physician: *МГ*

Rint = 1,245 - 0,006 · 70 = 0,855 - 100%
0,57 - 66%

Рисунок 5.5 Протокол исследования респираторного сопротивления и пробы с бронхолитиком (Rint/Rint Post).

Таким образом, фактором, осложняющим течение БЛД, является контаминация РС вирусом, которая чаще всего приводит к тяжелому обострению БЛД и требует повторной ИВЛ. Наши данные указывают на то, что в период стабилизации состояния у данного ребенка результаты респираторного сопротивления, ответа на бронхолитик и исследованных биомаркеров были сопоставимы с показателями здоровых доношенных детей.

Клинический случай №2.

Двое мальчиков N и G, находившихся в доме ребенка, обследованы в возрасте 1 года 11 месяцев (СВ 20 месяцев). Из анамнеза: мать состояла на учете в женской консультации с 23 недель, беременность 6 (1,2,3 – оперативные роды доношенными здоровыми детьми, 4-мертворожденный, 5-выкидыш) протекала на фоне ОАГА (Lues, рубец на матке, угроза невынашивания с 24 недели, многоводие), алкоголизма, табакокурения, гипохромной анемии 3 степени. Роды преждевременные в сроке 26-27 недель монохориальной биамниотической двойней, оперативные - экстренное кесарево сечение в связи с преждевременной отслойкой плаценты. Ребенок N родился первым из монохориальной биамниотической двойни с массой 810 грамм, рост 33 см, оценкой по шкале APGAR 4/5/ИВЛ в связи с нарастающей дыхательной недостаточностью по поводу РДС проведена заместительная терапия сурфактантом (курсурф 120 мг) эндотрахеально. Получил респираторную терапию: ИВЛ (FiO-40%) – 1 сутки, СРАР -11 суток, затем увлажненный кислород через маску 1 месяц 5 дней (кислородозависимость 1 месяц 17 дней). На НСГ – умеренное повышение эхогенности перивентрикулярных зон, перивентрикулярная лейкомаляция 1 степени, некистозная форма. ЭХО-КГ – ООО, аневризма МПП, ФАП гемодинамически незначимый. Был выписан из отделения недоношенных с диагнозом: БЛД, новая форма, легкой степени тяжести. Сопутствующий диагноз: ПП ЦНС, синдром двигательных дисфункций, вегето-висцеральных дисфункций, ранний восстановительный период. Недошенность 26 недель. Анемия недоношенных тяжелой степени (состояние после гемотрансфузии - 1-кратно). Профилактическое лечение Lues. Кардиопатия (ОАП, ДХЛЖ).

Ребенок на первом году жизни ежемесячно переносил ОРВИ, 4 раза отмечалась одышка, дистантные хрипы, потребовавшие госпитализаций, дополнительный кислород не получал, на 2 году жизни ОРВИ - 6 раз, из них 2 раза с бронхообструктивным синдромом (БОС). До 6 месяцев получал ингаляционную терапию будесонидом в дозе 250 мкг/сутки постоянно, в период обострений доза увеличивалась в 2 раза и использовали комбинированный

бронхолитик - беродуал. После 6 месяцев будесонид получал в период обострений в дозе 500 мкг/сутки.

На момент исследования ребенок находился в доме ребенка с диагнозом: БЛД, новая форма, легкой степени тяжести, вне обострения. Сопутствующий диагноз: Резидуальные явления ПП ЦНС, задержка речевого развития. Анемия 1 степени. Кардиопатия (ДХЛЖ). При осмотре было отмечено: удовлетворительное состояние, ребенок активный, ходит самостоятельно, интересуется игрушками, понимает речь, произносит отдельные звуки. Кожные покровы бледные, сухие, гиперкератоз. Подкожная клетчатка истончена. Масса 9 кг, рост 73 см. Грудная клетка правильной формы, симметрично участвует в акте дыхания, SaO₂ на момент осмотра 98%, частота дыханий 26 в минуту, частота сердечных сокращений 122 удара в минуту. При аускультации легких: дыхание пуэрильное, проводится над всей поверхностью легких, выдох не удлинен, хрипов нет.

При обследовании нами были получены следующие результаты: выявлены оба полиморфизма Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2. Показатели биомаркеров составили: ИЛ-10 – 0,8 пг/мл – пониженное значение по сравнению со здоровыми доношенными детьми, ИЛ-1 β – 0 пг/мл и ИЛ-4 – 0,41 пг/мл - в пределах нормы, MMP3 – 0,86 нг/мл – пониженное значение. Определено респираторное сопротивление (Rint), проба с бронхолитиком (Rint Post) не была проведена, так как ребенок кричал, задерживал дыхание. Результаты: сопротивление дыхательных путей было в норме Rint абс.=0,57 kPa/l/s (долженствующий показатель при росте 73 см должен быть \leq 0,84 kPa/l/s), таким образом, Rint% составляет 68% от максимально долженствующего показателя, см. рисунок 5.6.

MicroLoop Rint v 1.04 Page 1 of 1

Furman E.G.
Zhdanovich

I.D: 014 Sex: Male Age: 1
 Height: 73cm Weight: 9kg BMI: 16.9

Baseline Date 07/01/14 Time 17:44

Test no	---Baseline---		---Post1----		---Post2----	
	Resistance kPa/l/s	Flow l/s	Resistance kPa/l/s	Flow l/s	Resistance kPa/l/s	Flow l/s
1	0.24	0.01				
2	0.14	0.15				
3	0.97	0.26				
4	0.92	0.26				
5	0.57	0.47				

Median baseline 0.57kPa/l/s
 Predicted N/A

Notes: *Сопротивление для путей в норме (68%
 № 20 41%)
 преба с бр/литическ не прстофанась*

Technician: _____ Physician: *My*

Рисунок 5.6 Протокол исследования респираторного сопротивления Rint.

Второй ребенок из монохориальной биамниотической двойни G родился с массой 950 г и ростом 33 см, оценкой по шкале APGAR 4/5. Состояние после рождения тяжелое, в связи с нарастанием ДН на фоне РДС и внутриутробной пневмонии ребенок интубирован, введен курсурф эндотрахеально (120 мг). Получил респираторную терапию: ИВЛ (FiO – 40%) - 1 сутки, CPAP -15 суток, затем в связи с нарастанием дыхательной недостаточности повторно интубирован - ИВЛ (FiO - 40-60%) – 22 дня, после этого CPAP -10 суток, затем 18 дней увлажненный кислород через маску, далее на спонтанном дыхании атмосферным воздухом (кислородозависимость 2,5 месяца). На фоне проведения ИВЛ отмечался синдром церебральной недостаточности с судорожным синдромом. На рентгенологических снимках: с рождения - снижение прозрачности верхних долей обеих легких с явлениями бронхообструкции (двусторонняя верхнедолевая пневмония), на 2 сутки отрицательная динамика – очаговые тени по всем легочным полям, склонные к слиянию. Рентгенологическая картина на 10 сутки – понижение прозрачности легочных полей по типу «матовых стекол» с наличием очаговоподобных теней, на 14 сутки – тотальное понижение прозрачности левого гемиторакса справа, на 15 сутки – инфильтративные тени, чередующиеся с участками буллезновздутого легкого, в 29 дней - однородно пониженная

прозрачность обоих легких с наличием полостей деструкции. На НСГ – ЭХО-признаки перивентрикулярного отека головного мозга, ВЖК 2 степени, субэпендимальная киста в стадии формирования. На ЭХО-КГ – ООО со сбросом, ОАП гемодинамически незначимый. Ребенок был выписан из отделения недоношенных с диагнозом: БЛД недоношенных, новая форма, средней степени тяжести. ПП ЦНС, тяжелой степени, ВЖК 2 степени, синдром угнетения с элементами двигательных дисфункций. Внутриутробная пневмония. ЭНМТ. Недоношенность 26 недель. Анемия недоношенных тяжелой степени (состояние после гемотрансфузии - 3-хкратно). Профилактическое лечение Lues. Кардиопатия (ООО). Язвенно-некротический энтероколит. В последующем ребенок сформировал детский церебральный паралич, спастический тетрапарез. На первом году жизни ОРВИ ежемесячно, 4 обострения по типу пневмонии с бронхообструктивным синдромом потребовали госпитализации и кислородотерапии через маску. На 2 году жизни 5 эпизодов бронхообструкций. Ребенок с 1 месяца жизни получал ингаляционную терапию будесонидом в 500 мкг/сутки до 6 месяцев, затем до 1 года 250 мкг/сутки, на втором году в периоды обострений заболевания 500 мкг/сутки.

На момент исследования ребенок находился в доме ребенка с диагнозом: БЛД, новая форма, средней степени тяжести, вне обострения. Сопутствующий диагноз: Резидуальные явления ПП ЦНС, детский церебральный паралич, спастический тетрапарез. Анемия 1 степени. Кардиопатия (ДХЛЖ). На момент осмотра было отмечено: состояние удовлетворительное, катаральных явлений нет, ребенок-инвалид не сидит, не стоит, не ходит, речь-понимание отсутствует, издает отдельные звуки. Масса 8 кг, рост 76 см. Кожные покровы бледные, сухие, гиперкератоз. Подкожная клетчатка истончена. Голова увеличена в размерах. Ребенок не адекватен, кричит, мотает головой. Грудная клетка неправильной формы (развернутая апертура, килевидная грудная клетка) симметрично участвует в акте дыхания, SaO₂ на момент осмотра 95%, частота дыханий 28 в минуту, частота сердечных сокращений 130 ударов в минуту. При аускультации легких: дыхание пуэрильное, проводится над всей поверхностью легких, выдох не удлинен, хрипов нет.

При обследовании нами были получены следующие результаты: выявлены оба полиморфизма Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2. Показатели биомаркеров составили: ИЛ-10 – 344 пг/мл – резко повышенное значение (примерно в 30 раз), ИЛ-1 β – 0 пг/мл и ИЛ-4 – 0,11 пг/мл – в пределах нормы, MMP3 – 46,8 нг/мл – повышен (примерно в 2,5 раза). Таким образом, повышенный уровень ИЛ-10 и MMP3 выступают маркерами неблагоприятного течения БЛД и фиброзирование легочной ткани. Результаты определения респираторного сопротивления ребенка были исключены из исследования, так как были не информативны в результате неадекватного поведения ребенка (крик, плач). На рисунке 5.7 можно увидеть резко меняющиеся значения потока воздуха от 0,03 до 0,33 л/секунду при измерении исходного респираторного сопротивления и парадоксальную реакцию на пробу с бронхолитиком – RintPost на 157% выше исходного значения. Попытка проведения теста во сне была безуспешной вследствие гиперэстезии, ребенок просыпался, кричал - это подчеркивает сложность проведения диагностических манипуляций без седации детей с сочетанной психо-неврологической патологией.

MicroLoop Rint v 1.04

Furman E.G.
Zhdanovich

██████████ I.D: 009 Sex: Male Age: 1
Height: 76cm Weight: 8kg BMI: 13.9

Baseline Date 05/01/14 Time 17:58
Post 1 Date 05/01/14 Time 18:16

Test no	---Baseline---		---Post1---		Resis kPa/l
	Resistance kPa/l/s	Flow l/s	Resistance kPa/l/s	Flow l/s	
1	0.00	0.03	3.62	0.06	(кричал)
2	0.21	0.19	1.26	0.30	
3	1.24	0.33	1.81	0.25	
4	1.14	0.27	0.26	0.25	
5	0.49	0.17	0.69	0.25	

Median baseline 0.49kPa/l/s
Predicted N/A
Median post 1 1.26kPa/l/s
Percentage predicted N/A
Percentage change 157%

Рисунок 5.7 Протокол исследования респираторного сопротивления и пробы с бронхолитиком (Rint/Rint Post).

Таким образом, даже у монохориальных близнецов при БЛД наблюдается разная клиническая и биомолекулярная картина легочного повреждения.

Характер респираторной поддержки во многом определяет дальнейшее течение БЛД и развитие сочетанной патологии со стороны других органов и систем.

В данной главе представлены результаты исследования, которые характеризуются неоднородностью биомолекулярного профиля легочного повреждения, включая показатели ИЛ-10 и ММР3 в разные возрастные периоды у недоношенных детей с БЛД, что может отражать активность воспаления и процессов ремоделирования при БЛД. Продемонстрированы взаимосвязи цитокинов и маркера ремоделирования с гестационным и скоррегированным возрастом больных, состоянием вентиляционной функции.

Заключение

Недоношенность определяет степень морфо-функциональной незрелости большинства систем органов преждевременно рожденного ребенка. Известно, что реализация летального исхода недоношенных связана с респираторными нарушениями, что связано с переходом дыхательной системы после рождения в другие условия функционирования. Острая дыхательная недостаточность у преждевременно рожденных детей чаще всего связана с респираторным дистресс-синдромом (РДС) и/или развитием неонатальной пневмонии [30]. Современные малоинвазивные методы респираторной поддержки, заместительная терапия сурфактантом, нутритивная датация, термосберегающая концепция – все это позволило снизить младенческую смертность у данной категории детей [30]. В тоже время актуальным остается вопрос о возникновении одного из самых частых хронических заболеваний легких у детей раннего возраста – бронхолегочной дисплазии [18]. Форма, тяжесть, частота обострений БЛД определяется многими факторами: степенью незрелости ребенка, массой тела при рождении, перинатальными факторами риска, проводимой терапией после рождения, наличием внутриутробной инфекции и частыми последующими контаминациями [81,94].

Доказано, что генетические и эпигенетические факторы вносят свой вклад в реализацию преждевременных родов в целом и в развитие БЛД в частности [117,93,9]. По данным Lavoie и соавт. 79% близнецов продемонстрировали вклад генетических факторов в восприимчивость к БЛД, причем средняя и тяжелая БЛД сильнее ассоциированы с генетическими факторами. Изучение генетических полиморфизмов белков-рецепторов, влияющих на контрактильность дыхательных путей, может помочь персонализировать проводимую терапию у детей с данной патологией.

Сопутствующая патология со стороны других систем и органов, гипоксия/гипероксия, внутриутробные инфекции, дефицит сурфактанта в совокупности с реанимационными мероприятиями приводят к прогрессированию воспалительного процесса в легких. Поддерживаемое хроническое воспаление

легочной ткани при БЛД, а также недоразвитие альвеол и сосудистого русла приводит к активному синтезу огромного числа биомолекул [59]. Vento G. и соавт. установили корреляцию между наличием MMP3 в альвеолярной жидкости и развитием БЛД [130]. Учитывая, что основой базальных мембран является коллаген IV типа и ламинин, которые подвержены деградации в результате воздействия MMP3, то в результате изменения синтеза MMP3 возможно развитие фиброза легочной ткани в связи с нарушением целостности альвеолярно-капиллярного барьера. Активность металлопротеиназ регулируется под действием различных индукторов и ингибиторов. Так как ФНО- α и ИЛ-1 β являются двумя мощными индукторами синтеза металлопротеиназ (MMPs), а ИФН- γ и интерлейкины -4 и -10 могут подавлять синтез MMPs [72,136,67,35,106,110]. Кроме того рядом исследователей установлена взаимосвязь между повышенными показателями ИЛ-1 β , 6, 8, 10 в крови и развитием БЛД [50,30,89]. На наш взгляд, интерес представляет изучение соотношения показателей про- и противовоспалительных интерлейкинов, влияющих на синтез MMP3 и коррелирующих с развитием БЛД, поэтому мы остановились на комплексе биомаркеров, включающем ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10, MMP3.

Существующие в настоящее время методы оценки вентиляционной функции у детей раннего возраста сложны в применении и имеют ограничения в реальной клинической практике. Необходим простой, информативный, скрининговый метод, который позволил бы объективно оценить функцию внешнего дыхания и ответ на бронхолитическую терапию, тем самым более объективно подойти к назначению ингаляционных стероидов и бронхолитиков. На наш взгляд, таким скрининговым методом может быть Rint – метод измерения респираторного сопротивления (Raw) путем прерывания воздушного потока с оценкой бронхолитического теста, методика не требует дорогостоящего оборудования, специально обученного персонала, кооперации с пациентом и легко интерпретируется. Несмотря на то, что Raw, измеренное методом Rint, имеет погрешности по сравнению с Raw, определенным методом «золотого стандарта» - бебибодиплетизмографией, используемая нами методика (Rint) не требует медикаментозной седации [123].

Таким образом, многофакторность БЛД диктует нам необходимость учитывать весь комплекс составляющих этого заболевания: особенности клинической картины, состояние вентиляционной функции легких, выраженность процессов воспаления и фиброзирование, наличие генетических полиморфизмов белков-рецепторов, обеспечивающих контрактильность дыхательных путей. Именно комплексное изучение отдельных составляющих, дает целостное и объективное представление о состоянии респираторного тракта и течении заболевания.

Целью нашего исследования явилось изучение показателей ряда биомаркеров легочного повреждения (ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10, ММР3) и респираторного сопротивления с ответом на бронхолитик у детей с БЛД в разных возрастных группах во взаимосвязи с наличием полиморфизмов гена β 2-адренорецептора и клиническими особенностями течения заболевания.

В соответствии с целью и задачами работы в исследование были включены результаты ретроспективной оценки медицинской документации и результаты открытого выборочного поперечного исследования у 40 детей с БЛД (основная группа), скоррегированный возраст (СВ) которых составил от 0 до 21 месяца. В программу иммунологического обследования входило определение уровней интерлейкинов: -1 β , -4, -10 и непрямого маркера фиброза металлопротеиназы-3 (ММР3) в сыворотке крови методом ИФА. Определение двух однонуклеотидных полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 осуществлялось в лаборатории ЗАО «Синтол» г. Москва методом ПЦР в реальном времени на оборудовании Real-time CFX96 C1000 Touch, Bio-Rad. Объектом исследования служили образцы крови на фильтровальной бумаге. Исследование сопротивления дыхательных путей проводилось техникой прерывания воздушного потока (Rint) на устройстве «MicroRint» (MicroMedical UK) в исходном состоянии на выдохе и после пробы с бронхолитиком (беродуал) – Rint Post. Результат теста Rint вычислялся автоматически и визуализировался в абсолютных цифрах на экране в виде показателя baseline resistance – исходное респираторное сопротивление (kPa/l/s). Общее количество исследований в этой группе составило 95, так как 5 пациентам потребовалось повторное проведение исследования. На момент осмотра детям

была проведена пульсоксиметрия. При поступлении в стационар всем детям был взят мазок из носа на РС-вирус.

В 1-ю группу сравнения по двум полиморфизмам (Arg16Gly и Gln27Glu) гена ADRB2 вошли 59 практически здоровых детей, родившихся доношенными, в возрасте от 3 до 9 лет. Вторую группу сравнения по биомаркерам и респираторному сопротивлению составили здоровые доношенные дети в возрасте от 8 месяцев до 2 лет (n=20).

Детей основной группы, поступивших в клинику в период обострения и вне такового, было поровну (n=20). Практически каждый третий ребенок (32,5%, n=13) на момент обострения нуждался в кислородотерапии, 5 детей находились на СРАР в отделении реанимации и неотложной терапии (ОРИНТ), еще 8 детей получали кислород через маску. Исследование у детей основной группы, поступивших в обострении, проводилось в период стабилизации состояния: ребенок находился на спонтанном дыхании атмосферным воздухом, имел нормальные показатели сатурации.

Анализируя анамнестические данные, в основной группе превалировали дети, рожденные с гестационным возрастом ≤ 28 недель - 75%, с ЭНМТ - 52,5% и ОНМТ - 35%. Диагноз БЛД средней и тяжелой степени тяжести встречался примерно с равной частотой - 40% и 42,5% случаев соответственно. Примерно в равном соотношении регистрировалась новая и классическая формы (45% и 55% соответственно), заместительную терапию сурфактантом получили 45% детей.

Поделив основную группу детей на 3 подгруппы в зависимости от скоррегированного возраста (СВ): 1 подгруппа со СВ от 0 до 3,5 месяцев, 2 подгруппа со СВ от 4 до 8,5 месяцев, 3 подгруппа со СВ от 9 до 21 месяца. Было установлено, что с возрастом частота встречаемости тяжелой БЛД снижается (с 73% у детей 1 подгруппы до 18% у детей 3 подгруппы, $p=0,02$), как и частота поступлений в клинику в связи с обострением БЛД (с 91% до 18% в тех же подгруппах соответственно, $p=0,0001$). По мере роста ребенка снижается потребность в ингаляционных стероидах и инфицированность РС-вирусом, при этом возрастает показатель сатурации кислорода, см. таблицу 3.3.

Нами было установлено, что замена Gln27Glu гена ADRB2 встречалась достоверно ($z=2,2$, $p=0,025$) в 3 раза чаще у детей с БЛД по сравнению со здоровыми доношенными детьми, при этом полиморфизм Gln27Glu изолированно без Arg16Gly не встречался. Полиморфизм Gln27Glu гена ADRB2 при классической форме БЛД встречался достоверно в 2 раза чаще, чем при новой форме (35% против 18% случаев соответственно, $p=0,02$). У детей с БЛД, поступивших в стационар в период обострения, также достоверно чаще регистрировалась замена Gln27Glu гена ADRB2, чем у детей, поступивших на обследование вне такового (35% против 15% соответственно, $p=0,02$), таблица 4.3. Таким образом, данный полиморфизм ассоциирован больше с повреждением легочной ткани, чем с незрелостью.

Мы выбрали для изучения полиморфизмы Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 в связи с тем, что его продукт - β 2-адренорецептор, играет важную роль в регуляции просвета бронха. По данным литературы у больных, страдающих бронхиальной астмой (БА) и гомозиготных по Gly16, β 2-адренорецептор существенно быстрее деградирует при действии β 2-адреномиметиков по сравнению с Arg16, кроме того Gly16 форма рецептора гена ADRB2 ассоциирована с ночной БА и бронхиальной гиперреактивностью [102,4,34]. Больные БА, гомозиготные по Glu27, отличаются пониженной чувствительностью дыхательных путей к метахолину [4]. Поэтому определение полиморфизмов Gly16 и Glu27 у больных БА можно рассматривать в качестве предиктора гиперреактивности бронхов и сниженного ответа на бронхолитическую терапию.

При сравнении показателей исходного респираторного сопротивления и долей повышенного исходного Rint у детей с БЛД, имевших полиморфизмы Gly16 и Glu27 гена ADRB2 и без таковых, достоверной разницы мы не получили, см. таблицу 4.7. Не смотря на вышесказанное, отмечалась тенденция, подтверждающая литературные данные у больных с БА: в группе детей с БЛД, имеющих полиморфизмы Arg16Gly/Gln27Glu гена ADRB2, отмечалась низкая доля (20%) положительной пробы с бронхолитиком (Rint Post), чем у детей с БЛД без таковых (58%) ($\chi^2=3,32$, $p=0,07$), (таблица 4.7 и диаграмма 4.8).

Респираторное сопротивление (Rint) было результативно определено у 65%

детей (n=26) основной группы, так как наличие сопутствующей тяжелой неврологической патологии, крик, плач, задержка дыхания искажали данные тестов, которые не учитывались при анализе. Результаты исследования функции внешнего дыхания путем определения сопротивления дыхательных путей методом Rint показали, что данная методика может использоваться в обследовании недоношенных детей с 3-х месячного возраста внеутробной жизни. При этом ребенок должен находиться на спонтанном дыхании атмосферным воздухом или на кислородной терапии через маску без частых периодов десатурации. Причем самая высокая воспроизводимость метода отмечалась у детей наименьшего возраста (1 подгруппа БЛД СВ 0-3,5 месяцев) - 73%, так как методику проще осуществлять во время сна, через 20-30 минут после кормления.

Показатель baseline resistance (кПа/л/с) визуализируется на экране в абсолютных цифрах – это давление в момент кратковременного перекрытия воздухоносных путей клапаном датчика. Для расчета должноствующего показателя baseline resistance (кПа/л/с) дыхательных путей с учетом роста ребенка использовали формулу: $1,275 - 0,006 * \text{рост (см)}$, затем рассчитывали процент от должноствующего показателя (Rint%). За норму принимали показатели сопротивления дыхательных путей до 101% согласно стандарту Меркуса. Нами было получено, что Rint абс. и % увеличивается по мере роста ребенка, достигая пика при СВ от 4 до 8,5 месяцев, затем эти показатели начинают снижаться, практически достигая уровня здоровых детей, сопоставимых по возрасту. С возрастом также уменьшается выраженность бронхолитического ответа (Rint Post) с -35,5% до -17%, но не достигает показателя здоровых (см. таблицу 4.3, рисунок 4.4). Данная методика может использоваться при обследовании детей с БЛД в поликлиниках, домах ребенка (без госпитализации) в качестве скрининговой с целью мониторинга ФВД и объективной оценки ответа на бронхолитик. Возможно проведение данной методики пульмонологом городского пульмонологического центра, под наблюдением которого эти дети находятся до 3-х летнего возраста.

В целом в группе с БЛД примерно с одинаковой частотой регистрировался Rint нормальный и повышенный (43% и 57% соответственно, $p=0,7$). Важным

фактом можно считать то, что у 77% детей с исходным повышенным сопротивлением воздухоносных путей (R_{int} абс. и %) отмечалась положительная проба на бронхолитик (R_{int} Post). Это, с одной стороны, подтверждает необходимость проведения бронхолитической терапии; с другой стороны, говорит о том, что есть случаи, при которых на фоне повышенного сопротивления отмечается малообратимая обструкция. Из литературы известно, что стероиды повышают экспрессию β_2 -адренорецепторов за счет усиления генной транскрипции, поэтому терапия малыми дозами ингаляционных стероидов может предотвратить дисрегуляцию β_2 -адренорецепторов [72].

На наш взгляд, важно оценить значения некоторых про- и противовоспалительных интерлейкинов, как ко-факторов, ассоциированных с экспрессией непрямого маркера фиброза MMP3 и установить возможную взаимосвязь между показателями биомаркеров легочного повреждения и тяжестью течения БЛД.

Изучая степень активности биомаркеров: ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10, MMP3 в группе детей с БЛД в разные возрастные периоды, достоверных различий по медианному тесту среди множества независимых групп мы не получили, см. рисунок 5.1. Доля повышенных результатов была достоверно выше в целом в группе детей с БЛД (25%) по отношению к повышенным показателям здоровых детей (7%) для ИЛ-10, $p=0,0012$; и для MMP3 (27% к 13%, $p=0,02$), рисунок 5.2.

У детей 1 подгруппы (СВ до 3,5», у детей 2 подгруппы (СВ от 4 до 8,5 месяцев) – повышенный месяцев) чаще встречается повышенный показатель ИЛ-10 - маркер иммунной «корректировки показатель MMP3 - непрямым маркер «фиброза». Причем повышение уровня ИЛ-10 в 10 и более раз у детей 3 подгруппы (СВ от 9 месяцев до 21 месяца) в сочетании с повышенным значением MMP3 является прогностически неблагоприятным критерием течения БЛД. Наше исследование подтверждает литературные данные о том, что максимальный подъем ИЛ-10 предсказывает у больных высокий риск летального исхода [50]. Четверо детей из 3 подгруппы, находившихся на СРАР, в последующем интубированных и окончивших летальным исходом, имели значения ИЛ-10: 795 пг/мл, 344 пг/мл, 211 пг/мл, 208 пг/мл (при $M \pm \sigma$ у группы здоровых детей

13,9±1,0 пг/мл) в сочетании с повышенными значениями ММРЗ: 74 нг/мл, 46 нг/мл, 16 нг/мл, 46 нг/мл (при $M \pm \sigma$ у группы здоровых детей 6,9±4,4 нг/мл).

У детей с легкой степенью тяжести БЛД наблюдаются однородные показатели ИЛ-10 и ММРЗ, сравнимые с результатами данных биомаркеров у здоровых доношенных детей. С увеличением тяжести заболевания возрастает доля детей, показатели которых резко отличаются (в 10 и более раз) от средних показателей в группе здоровых, как в сторону увеличения результатов, так и в сторону их снижения.

Таким образом, иммунологическая неоднородность и «мозаичность» изменений уровней биомаркеров легочного повреждения при БЛД отражает возможное существование различных воспалительных фенотипов при данном заболевании и может указывать на неблагоприятный исход болезни.

В целом по всей группе детей с БЛД была установлена корреляция по Спирмену ($r=0,66$, $p<0,05$) между ИЛ-1 β и RintPost (абс.) в виде прямой связи, см. таблицу 5.2. Таким образом, чем выше уровень воспаления, маркером которого является ИЛ-1 β , тем более выражен вклад бронхоконстрикции.

Таким образом, современные биомолекулярные методы во взаимосвязи с методами оценки функции внешнего дыхания позволяют объективно оценить степень легочного повреждения и функцию внешнего дыхания у недоношенных детей с БЛД. У детей с БЛД тяжелой и средней тяжести с повышенным исходным значением Rint абс и %, но отрицательной пробой с бронхолитиком, возможно обследование на полимирифизмы Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2. Простая в использовании и интерпретации методика Rint/RintPost может применяться в качестве скрининговой у недоношенных детей раннего возраста с учетом тяжести состояния для мониторинга ФВД и выявления повышенной реактивности бронхов. Сочетание повышенных показателей ИЛ-10 (в десять и более раз) и ММРЗ (в два и более раз), превышающих среднее значение у здоровых детей, может служить маркером легочного повреждения и неблагоприятного течения БЛД.

ВЫВОДЫ

1. Полиморфизм Gln27Glu гена ADRB2 встречается в 3 раза чаще у детей с БЛД в сравнении со здоровыми детьми (27,5% - у детей с БЛД против 8,5% - у здоровых, $z=2,2$, $p=0,025$), причем только в сочетании с полиморфизмом Arg16Gly.
2. Установлено, что сопротивление дыхательных путей (Rint абс. и %) увеличивается по мере роста ребенка, достигая пика при СВ от 4 до 8,5 месяцев, затем начинает снижаться при СВ от 9 до 21 месяца, практически достигая уровня здоровых детей, сопоставимых по возрасту. С возрастом уменьшается выраженность бронхолитического ответа (с -35,5% Rint Post у детей с СВ от 0 до 3,5 месяцев до -17% Rint Post у детей со СВ старше 9 месяцев), но не достигает показателя здоровых.
3. Отмечается неоднородность биомаркеров легочного повреждения в группе детей с БЛД и «мозаичность» изменений уровней ИЛ-10 и ММР3: значительная доля повышенных и пониженных показателей ИЛ-10 в 1 и 3 подгруппах, ММР3 во 2 и 3 подгруппах. Превышение показателя ИЛ-10 в 10 и более раз от средних показателей в группе здоровых детей $13,9 \pm 1,0$ пг/мл, в сочетании с повышенными показателями ММР3 в 2 и более раз от $6,9 \pm 4,4$ нг/мл, является прогностически неблагоприятным признаком легочного повреждения и течения БЛД.
4. Полиморфизм Gln27Glu гена ADRB2 достоверно чаще ассоциирован с классической формой БЛД и чаще регистрировался у детей, поступивших в стационар в период обострения. У детей с БЛД, имеющих полиморфизмы Arg16Gly/Gln27Glu гена ADRB2 отмечается тенденция к низкой чувствительности к бронхолитику по сравнению с детьми без таковых (20% против 58% соответственно, $p=0,07$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Врачам функциональной диагностики и пульмонологам в качестве скрининговой методики объективной оценки ФВД и ответа на бронхолитик применять методику Rint/RintPost у детей с БЛД вне обострения с 3-х месячного возраста внеутробной жизни, находящимся на спонтанном дыхании. С проведением Rint теста 1 раз в 3 месяца - детям до 1 года жизни, далее 1 раз в полгода – детям до 2-х лет, далее по показаниям. Считать повышенным показатель Rint абс. при его значении более 1,0 kPa/l/s у детей со СВ до 3 месяцев и более 0,9 kPa/l/s у детей со СВ более 3 месяцев.

2. Детям с тяжелой БЛД и устойчивым низким ответом к β 2-агонистам, преимущественно с классической формой и частыми обострениями заболевания проводить исследование ПЦР в реальном времени для определения одиночных нуклеотидных полиморфизмов Arg16Gly и Gln27Glu гена ADRB2 с целью обоснования возможного низкого ответа на бронхолитики.

3. У детей с тяжелой и среднетяжелой степенью тяжести БЛД определять уровень ИЛ-10 и MMP3. Превышение показателя ИЛ-10 в 10 и более раз от показателей здоровых детей - $13,9 \pm 1,0$ пг/мл в сочетании с 2-х кратным и более превышением соответствующего среднего показателя MMP3 ($6,9 \pm 4,4$ нг/мл) считать прогностически неблагоприятным признаком легочного повреждения и течения БЛД.

Список литературы.

1. Абатуров, А.Е. Опсонизирующая сеть протеинов системы неспецифической защиты респираторного тракта. 3. Коллектины: белки сурфактанта (часть 2). / А.Е. Абатуров // Здоровье ребенка. – 2011. - Т. 29, №2. - С.89-94.
2. Аверьянов, А.В. Роль нейтрофильной эластазы в патогенезе хронической обструктивной болезни легких. / А.В. Аверьянов // Цитокины и воспаление. - 2007. - Т. 6, № 4. - С.3-8.
3. Аржанова, О.Н. Этиопатогенез невынашивания беременности / О.Н. Аржанова, Н.Г. Кошелева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2004. – Т.53, №1. – С.37-41.
4. Асанов, А.Ю. Генетические основы бронхиальной астмы. / А.Ю. Асанов, Л.С. Намазова-Баранова, В.Г. Пинелис // Педиатрическая фармакология. – 2008. Т.5, №4. С.31-37.
5. Банкалари, Э. Легкие новорожденных: проблемы и противоречия в неонатологии. / Э. Банкалари. – Москва: Логосфера, - 2015. 648с.
6. Баранов, А.А. Современные подходы к профилактике, диагностике и лечению бронхолегочной дисплазии. / А.А. Баранов, Л.С. Намазова-Баранова, И.В. Давыдова // М., Руководство для практических врачей, 2013. —172 с.
7. Басаргина, Е.Ю. Современные методы клинко-инструментального обследования в прогнозировании течения бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / Басаргина Елена Юрьевна – М., 2016. – 24 с.
8. Батман, Ю.А. Изучение патогенетических механизмов формирования иммунологического ответа у недоношенных детей с бронхолегочной дисплазией. / Ю.А. Батман, Л.В. Натрус, В.В. Павлюченко [и др.] // Медико-социальные проблемы семьи. – 2013. – Т.18, №2. – Р.73-80.
9. Беляева, И.А. Роль генетических факторов в формировании бронхолегочной дисплазии у детей / И.А. Беляева, И.В. Давыдова // Вопр. диагностики в педиатрии. - 2012. - Т. 4, № 5. - С.5-9.

10. Беляшова, М.А. Молекулярно-генетические механизмы развития бронхолегочной дисплазии. / М.А. Беляшова, Д.Ю. Овсянников, Л.М. Огородова // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2015. - №3. – С.50-68.
11. Валиулина, А.Я. Проблемы и перспективы успешного выхаживания и реабилитации детей, родившихся с низкой и экстремально низкой массой тела. / А.Я. Валиулина, Э.Н. Ахмадеева, Н.Н. Кривкина // Вестник современной клинической медицины. – 2013. - Т.6, вып.1.- С.34-41.
12. Введение детей с бронхолегочной дисплазией: федеральные клинические рекомендации / Союз педиатров России, Российская ассоц. специалистов перинатальной медицины. – Москва: ПедиатрЪ, 2014. – 52 с
13. Виноградова, И.В. Катамнестическое наблюдение за детьми с экстремально низкой массой тела при рождении. / И.В. Виноградова, М.В. Краснов, Л.Г. Ногтева // Практическая медицина. – 2008. – №31. - Р.67-69.
14. Генетика бронхолегочных заболеваний / под ред. В.П. Пузырева, Л.М. Огородовой. Серия монографий Российского респираторного общества, гл. ред. Чучалин А.Г. М.: Атмосфера, 2010. 160 с.
15. Голобородько, М.М. Распространенность и факторы риска формирования болезней мелких бронхов у детей на примере г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.43 / Голобородько Мария Михайловна. – СПб., 2009. – 20с.
16. Гречуха, Т.А. Особенности исследования респираторных звуков методом бронхофонографии у детей. / Т.А. Гречуха, Е.А. Камышова, М.Н. Якушенко // Фундаментальные исследования. – 2004. - №4. - Р.62-64.
17. Давыдова, И.В. Рентгенологические критерии диагностики бронхолегочной дисплазии / И.В. Давыдова, Е.Н. Цыгина, О.В. Кустова [и др.] // Российский педиатрический журнал. – 2008. – №5. – С.66-68.
18. Давыдова, И.В. Формирование, течение и исходы бронхолегочной дисплазии у детей: автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.01.08 / Давыдова Ирина Владимировна. - М., 2010. - 48с.

19. Лебедева, О.В. Факторы риска формирования бронхолегочной дисплазии у новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении. / О.В. Лебедева // Педиатрическая фармакология. – 2014. - Т.11, №3. – Р.37-42.
20. Левадная, А.В. Совершенствование методов профилактики и патогенетической терапии бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей: автореф. дис. ...канд. мед. наук:14.01.08 / Левадная Анна Викторовна. – Москва, 2012. - 25с.
21. Научно-практическая программа «Бронхолегочная дисплазия». Москва: Оригинал-маркет, 2012. – 88 с.
22. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика», 3-е изд., испр. и доп. — М.: Издательский дом «Атмосфера», 2008. - 108 с.
23. Овсянников, Д.Ю. Современные подходы к профилактике и лечению бронхолегочной дисплазии. / Д.Ю. Овсянников, А.М. Болибок, М.И. Даниэл-Абу // Вестник современной клинической медицины. – 2016. – Т.9, вып.2. – С.29-35.
24. Овсянников, Д.Ю. Бронхолегочная дисплазия у детей первых трех лет жизни: автореф. дисс. ... д. м. н.: 14.01.08 / Овсянников Дмитрий Юрьевич. - М., 2010. – 48с.
25. Охотникова, Е.Н. Бронхолегочная дисплазия: фактор риска развития хронической патологии органов дыхания у детей. / Е.Н. Охотникова, Е.В. Шарикадзе, С.Я. Старенькая // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. – 2009. – Т.3, №7. – С.14-31.
26. Павлинова, Е.Б. Анализ полиморфизма генов ферментов антиоксидантной системы у недоношенных новорожденных из группы риска по формированию бронхолегочной дисплазии / Е.Б. Павлинова // Вопр. диагностики в педиатрии. - 2011. - Т.3, №5. - С.14-19.
27. Павлинова, Е.Б. Бронхофонография как метод для прогнозирования исходов респираторного дистресс-синдрома у недоношенных новорожденных / Е.Б.

- Павлинова, Т.В. Оксеньчук, Л.А. Кривцова // Бюллетень сибирской медицины. - 2011. - №14. - С.123-129.
- 28.** Панова, Л.Д. Факторы риска формирования бронхолегочной диспалзии у недоношенных младенцев с респираторной патологией / Л.Д. Панова, Э.Н. Ахмадеева, П.В. Панов и др. // Материалы I Международного конгресса по перинатальной медицине. - М., 2011. - 129с.
- 29.** Панченко, А.С. Бронхолегочная дисплазия у детей: факторы риска и иммунобиохимические маркеры. / А.С. Панченко, И.Н. Гаймоленко, А.В. Игнатъева // Пульмонология. – 2015. – №.1. – С.86-92.
- 30.** Панченко, А.С. Патогенетическая характеристика и прогнозирование формирования бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей. Автореф. дис. ...докт. мед. наук: 14.01.08. / Панченко. – Иркутск, 2015. - 43 с.
- 31.** Пермский краевой медицинский информационно-аналитический цент.
- 32.** Петрова, А.С. Особенности адаптации недоношенных новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела и состояние их здоровья на первом году жизни в зависимости от вариантов перинатального ведения: автореф. дис. ...канд. мед. наук:14.01.08 / Петрова Анастасия Сергеевна. – Москва, 2015. - 25с.
- 33.** Пономарёва, М.С. Особенности состояния здоровья практически здоровых детей с полиморфизмом гена $\beta 2$ -адренорецептора / М.С. Пономарёва, Е.Г. Фурман, А.М. Ярулина и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5; URL: <http://www.science-education.ru/128-22676> (дата обращения: 09.11.2015).
- 34.** Пономарёва, М.С. Семейный полиморфизм гена ADRB2 при бронхиальной астме в детском возрасте. / М.С. Пономарёва, Е.Г. Фурман, Е.А. Хузина и др. // Пермский медицинский журнал. – 2015. - №5. – С.30-36.
- 35.** Потеряева, О.Н. Матриксные металлопротеиназы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний (обзор литературы). / О.Н. Потеряева // Медицина и образование в Сибири. – 2010. - №5. – С.18-24.
- 36.** Принципы ведения новорожденных с респираторным дистресс синдромом. Методические рекомендации под редакцией академика РАМН Н.Н.

- Володина. / Российская ассоциация специалистов перинатальной медицины. – Москва, 2014. - 39с.
- 37.** Рожденные слишком рано. Доклад о глобальных действиях в отношении преждевременных родов. Всемирная организация здравоохранения, 2012. 112 с.
- 38.** Романенко, В.А. Оценка встречаемости синдрома утечки воздуха и бронхолегочной дисплазии при проведении искусственной вентиляции легких. / В.А. Романенко, К.В. Романенко, А.П. Аверин и др. // Вопр. практической педиатрии. – 2008. - Т.3, №5. - С.46.
- 39.** Сахарова, Е.С. Особенности психомоторного развития глубоконедоношенных детей / Е.С. Сахарова, Е.С. Кешишян, Г.А. Алямовская // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т.6, Вып.6. – С.84-90.
- 40.** Синюкова, Т.А. Сурфактантные белки и их роль в функционировании дыхательной системы. / Т.А. Синюкова, Л.В. Коваленко // Вестник СурГУ Медицина. – 2011. - №9. – С. 48-54.
- 41.** Современные подходы к профилактике, диагностике и лечению бронхолегочной дисплазии: руководство для практикующих врачей / под ред. А.А. Баранова, Л.С. Намазовой – Барановой, И.В. Давыдовой. – М.: ПедиатрЪ, 2013. – 176с.
- 42.** Степанова, О.А. Комплексная перинатальная стратегия по ведению респираторного дистресс-синдрома недоношенных новорожденных: основные положения Европейского консенсуса. Пересмотр 2013 года / О.А. Степанова, А.И. Сафина // Вестник современной клинической медицины. — 2013. — Т.6. — С.129–135.
- 43.** Тресорукова, О.В. Оценка функционального состояния дыхательной системы новорожденных детей по результатам бронхофонографии. / О.В. Тресорукова // Вопр. совр. педиатрии. - 2007. - Т.6, №5. – С.115-117.
- 44.** Фатыхова, Н.Р. Неврологические проблемы детей, рожденных с экстремально низкой массой тела / Н.Р. Фатыхова, В.Ф. Прусаков // Практическая медицина. - 2010. – Т.46, №7. - С.136.

45. Хамидуллина, Л.И. Полиморфизм генов белков сурфактанта В И D как фактор предрасположенности к развитию дыхательных нарушений у новорожденных. / Л.И. Хамидуллина, К.В. Данилко, Р.М. Файзуллина // Педиатрия. – 2010. - Т.89, № 1. – С.51-55.
46. Цветкова, О.А. Полиморфизм гена ADRB2: роль в предрасположенности к заболеванию, тяжести течения и терапевтическом ответе при хронической обструктивной болезни легких. / О.А. Цветкова, М.Х. Мустафина // Пульмонология. – 2013. - Vol.2. – P.5-9.
47. Яцык, Г.В. Диагностика и комплексная реабилитация перинатальной патологии новорожденных детей / Г.В. Яцык. - М.: ПедиатрЪ, 2012. - 155 с.
48. Яцык, Г.В. Способ оценки степени тяжести бронхолегочной дисплазии: пат. 2401066 Рос. Федерация / Г.В. Яцык, И.В. Давыдова, О.В. Кустова [и др.]. – № 2008152138/14; заявл. 29.12.2008; опубл. 10.10.2010.
49. Alvira, С.М. Aberrant Pulmonary Vascular Growth and Remodeling in Bronchopulmonary Dysplasia. / С.М. Alvira // Front. Med. – 2016. – Vol.3. – P.1-13.
50. Ambalavanan, N. Cytokines associated with bronchopulmonary dysplasia or death in extremely low birth weight infants. / N. Ambalavanan, W.A. Carlo, С.Т. D’Angio [et al.] // Pediatrics. - 2009. - Vol.123, №4. - P.1132-1141.
51. Ambalavanan, N. Prediction of mortality for extremely low birth weight neonates. / N. Ambalavanan, W. Carlo, G. Bobashev [et al.] // Pediatrics. - 2005. - Vol.16. - P.1367-73.
52. Arets, H.G. Applicability of interrupter resistance measurements using the MicroRint in daily practice. / H.G. Arets, H.J. Brackel, С.К. van der Ent // Respir. Med. – 2003. – Vol.97. – P.366–74.
53. Askenazi, D.J. Genetic polymorphisms of heme-oxygenase 1 (HO-1) may impact on acute kidney injury, bronchopulmonary dysplasia, and mortality in premature infants / D.J. Askenazi, B. Halloran, N. Patil // Pediatric Research. – 2015. – Vol.77, №6. – P.793-798 .

54. Balany, J. Understanding the impact of infection, inflammation, and Their Persistence in the Pathogenesis of Bronchopulmonary Dysplasia. / J. Balany, V. Bhandari // *Front. Med.* – 2015. – Vol.2. – P.1-100.
55. Bancalari, E. Bronchopulmonary dysplasia: changes in pathogenesis, epidemiology and definition. / E. Bancalari, N. Claure, I.R.S. Sosenko // *Semin. Neonatol.* – 2003. – Vol. 8. – P.63-71.
56. Bandari, V. Familial and genetic susceptibility to major neonatal morbidities in preterm twins / V. Bandari, M.J. Bizzaro, A. Shetty [et al.] // *Pediatrics.* - 2006. - Vol. 117. - P.1901-06.
57. Bates, J. Interrupter resistance elucidated by alveolar pressure measurement in open-chest dogs. / J. Bates, M. Ludwig, P. Sly [et al.] // *J. Appl. Physiol.* – 1988. – Vol.65. – P.408–414.
58. Bekkema, R. The interrupter resistance measured with 2 systems; a comparison between the Whistler Ifmi and the MicroRint device. / R. Bekkema, J. Tersmette // *European Respiratory Journal.* – 2014. - Vol.44. – P.1826.
59. Bhandari, A. Biomarkers in Bronchopulmonary Dysplasia. / A. Bhandari, V. Bhandari // *Paediatric Respiratory Reviews.* – 2013. – Vol.14, №3. – P.173–179.
60. Blencowe, H. National, regional and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends for selected countries since 1990: a systematic analysis and implications. / H. Blencowe, S. Cousens, M. Oestergaard // *Lancet.* – 2012. - Vol.379. – P.2162-2172.
61. Cai, B. Association of surfactant protein B gene polymorphisms (C/A-18, C/T1580, intron 4 and A/G9306) and haplotypes with bronchopulmonary dysplasia in Chinese Han population / B. Cai, L. Chang, W. Li [et al.] // *Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* - 2013. - Vol.33, №3. - P.323-328.
62. Chavasse, R.J. Comparison of resistance measured by the interrupter technique and by passive mechanics in sedated infants. / R.J. Chavasse, Y. Bastian-Lee, P. Seddon. // *Eur. Respir. J.* – 2001. - Vol.18. – P.330–334.
63. Chess, P.R. Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. / P.R. Chess, C.T. D'Angio, G.S. Pryhuber [et al.] // *Semin Perinatol.* – 2006. – Vol.30, №4. - P.171-178.

64. Chien, Y.H. Rehospitalization of extremely low birth weight infants in first 2 years of life. / Y.H. Chien, P.N. Tsao, H.C. Chou [et al] // *Early Hum. Dev.* – 2002. – Vol.66. – P.33–40.
65. Chroneos, Z.C. Pulmonary surfactant: an immunological perspective. / Z.C. Chroneos, Z. Sever-Chroneos, V.L. Shepherd // *Cell Physiol. Biochem.* – 2010. – Vol.25. - P.13-26.
66. Crie´e, C.P. Body plethysmography - Its principles and clinical use. / C.P. Crie´e, S. Sorichter, H.J. Smith [et al] // *Respiratory Medicine.* – 2011. - Vol.105 - P.959-971.
67. Davey, A. Matrix metalloproteinases in acute lung injury: mediators of injury and drivers of repair. / A. Davey, D.F. McAuley, C.M. O’Kane // *Eur. Respir. J.* – 2011. - Vol.38. – P.959–970.
68. De Paepe, M.E. Growth of pulmonary microvasculature in ventilated preterm infants. / M.E. De Paepe, Q. Mao, J. Powell [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2006. – Vol.173, №3. - P.204-211.
69. Delacourt, C. Comparison of the forced oscillation technique and the interrupter technique for assessing airway obstruction and its reversibility in children. / C. Delacourt, H. Lorino, C. Fuhrman [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. - Vol.164, №6. – P.965–72.
70. Dessardo, N.S. Chorioamnionitis and chronic lung disease of prematurity: a path analysis of causality. / N.S. Dessardo, E. Mustac, S. Dessardo [et al.] // *Am. J. Perinatol.* – 2012. Vol.29. – P.133–40.
71. Doyle, L.W. Birth weight <1501 g and respiratory health at age 14. / L.W. Doyle, M.M. Cheung, G.W. Ford [et al] // *Arch. Dis. Child.* – 2001. – Vol.84. – P.40– 44.
72. Elkington, P.T.G. Matrix metalloproteinases in destructive pulmonary pathology. / P.T.G. Elkington, J.S. Friedland // *Thorax.* - 2006. - Vol.61. – P.259–266.
73. Filbrun, A.G. Longitudinal measures of lung function in infants with bronchopulmonary dysplasia. / A.G. Filbrun, A.P. Popova, M.J. Linn // *Pediatr. Pulmonol.* – 2011. - Vol.46, №4. – P.369–375.

74. Galinsky, R. The Consequences of Chorioamnionitis: Preterm Birth and Effects on Development. / R. Galinsky, G.R. Polglase, S.B. Hooper [et al.] // Journal of Pregnancy. – 2013. - P.1-11.
75. Gappa, M. Lung function testing respiratory disorders and chronic lung disease of infancy: lung and chest-wall mechanics / M. Gappa, J. Pillow, J. Allen // *Pediatr. Pulmonol.* - 2006. - Vol.41. - P.291-317.
76. Gappa, M. Passive respiratory mechanics: the occlusion techniques / M. Gappa, A.A. Colin, I. Goetz [et al.] // *Eur. Respir. J.* - 2001. - Vol.17. - P.141-148.
77. Greenlee, K.J. Matrix Metalloproteinases in Lung: Multiple, Multifarious, and Multifaceted. / K.J. Greenlee, Z. Werb, F. Kheradmand // *Physiol. Rev.* – 2007. - Vol.87. – P.69–98.
78. Hadchouel, A. Matrix Metalloproteinase Gene Polymorphisms and Bronchopulmonary Dysplasia: Identification of MMP16 as a New Player in Lung Development. / A. Hadchouel, F. Decobert, M.-L. Franco-Montoya [et al.] // *PLoS ONE.* – 2008. Vol.3, №9. P.3188.
79. Hartling, L. Chorioamnionitis as a risk factor for bronchopulmonary dysplasia: a systematic review and meta-analysis. / L. Hartling, Y. Liang, T. Lacaze-Masmonteil // *Arch Dis Child Fetal Neonatal.* – 2012. - Vol.97, №1. – P.8–17.
80. Hernansanz-Agustina, P. Acute hypoxia produces a superoxide burst in cells. / P. Hernansanz-Agustina, A. Izquierdo-Álvarez, F.J. Sánchez-Gómez [et al.] // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2014. – Vol.71. – P. 146–156.
81. Hilgendorff, A. Bronchopulmonary dysplasia early changes leading to long-term consequences. / A. Hilgendorff, M.A. O'Reilly // *Frontiers in Medicine.* – 2015. Vol.2. – P.1-10.
82. Hizawa, N. Beta-2 adrenergic receptor genetic polymorphisms and asthma. / N. Hizawa // *J Clin Pharm Ther.* – 2009. – Vol.34. – P.631–643.
83. Iyer, N.P. The role of surfactant and non-invasive mechanical ventilation in early management of respiratory distress syndrome in premature infants. / N.P. Iyer, M.J. Mhanna // *World J. Pediatr.* – 2014. – Vol.10. – P.204-10.
84. Jobe, A.H. Bronchopulmonary dysplasia. / A.H. Jobe, E. Bancalari // *Am. J. Respr. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol.163, №7. – P.1723-9.

85. Joshi, S. Lung growth and development. / S. Joshi, S. Kotecha // *Early Hum. Dev.* – 2007. - Vol.83, №12. – P.789–94.
86. Kair, L.R. Bronchopulmonary Dysplasia. / L.R. Kair, D.T. Leonard, J.D.M. Anderson // *Pediatrics in Review.* - 2012. - Vol.33, №6. – P.255-65.
87. Karakoç, E. Pre/Postbronchodilator Interrupter Resistance in Former Preterm Children During Preschool Age. / E.Karakoç, I. Akman, S. Karakurt // *Turkish Respiratory Journal.* – 2006. - Vol.7, №3. – P.113-117.
88. Klein, L.L. Infection and Preterm Birth. / L.L. Klein, R.S. Gibbs // *Obstet. Gynecol. Clin. N. Am.* – 2005. – Vol.32. – P.397 – 410.
89. Koksall, N. Value of serum and bronchoalveolar fluid lavage pro- and anti-inflammatory cytokine levels for predicting bronchopulmonary dysplasia in premature infants. / N. Koksall, B. Kayik, M. Cetinkaya [et al.] // *Eur. Cytokine Netw.* – 2012. – Vol.23, №2. – P.29-35.
90. Kramer, B.W. Prenatal inflammation and lung development. / B.W. Kramer, S. Kallapur, J. Newnham // *Semin. Fetal. Neonatal. Med.* – 2009. - Vol.14. – P.2–7.
91. Krueger, M. Polymorphisms of interleukin 18 in the genetics of preterm birth and bronchopulmonary dysplasia / M. Krueger, A. Heinzmann, B. Mailaparambil [et al.] // *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* - 2011. - Vol.96, №4. - P.299-300.
92. Kusuda, S. Morbidity and mortality of infants with very low birth weight in Japan: center variation. / S. Kusuda // *Pediatrics.* - 2006. – Vol. 118. – P.1130—1138.
93. Kwinta, P. Genetic risk factors of bronchopulmonary dysplasia / P. Kwinta, B.M. Miroslaw, M. Zofia [et al.] // *Pediatr. Res.* 2008. - Vol. 64, N 6. - P.682-688.
94. Lavoie, P.M. Heritability of bronchopulmonary dysplasia, defined according to the consensus statement of the national institutes of health. / P.M. Lavoie, C. Pham, K.L. Jang // *Pediatrics.* – 2008. - Vol.122. – P.479–485.
95. Lee, H.J. Chorioamnionitis, respiratory distress syndrome and bronchopulmonary dysplasia in extremely low birth weight infants. / H.J. Lee, E.K. Kim, H.S. Kim [et al.] // *Journal of Perinatology.* - 2011. Vol.31, №3. - P.166–170.
96. Lombardi, E. Reference values of interrupter respiratory resistance in healthy preschool white children. / E. Lombardi, P.D. Sly, G. Concutelli [et al.] // *J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol.163. – P.1350–1355.

- 97.** Madurga, A. Systemic hydrogen sulfide administration partially restores normal alveolarization in an experimental animal model of bronchopulmonary dysplasia. / A. Madurga, I. Mizikova, J. Ruiz-Camp [et al] // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol Physiol.* – 2014. – Vol.306, №7. - P.684–97.
- 98.** Mahlman, M. Genes encoding Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGF-A) and VEGF Receptor 2 (VEGFR-2) and risk for Bronchopulmonary Dysplasia / M. Mahlman, J.M. Huusko, M.K. Karjalainen // *Neonatology.* - 2015. – Vol.108, №1. - P.53-59.
- 99.** Marchal, F. Forced oscillations, interrupter technique and body plethysmography in the preschool child. / F. Marchal, C. Schweitzer, L.V. Thuy // *Paediatr. Respir. Rev.* – 2005. – Vol.6. – P.278–84.
- 100.** McKenzie, S.A. Airway resistance measured by the interrupter technique: normative data for 2–10-year-olds of three ethnicities. / S.A. McKenzie, E. Chan, I. Dundas [et al] // *Arch. Dis. Child.* – 2002. – Vol.87. – P.248–51.
- 101.** Merkus, P.J.F.M. Respiratory function measurements in infants and children. / P.J.F.M. Merkus, J.C. de Jongste, J. Stocks // *Eur. Respir. Mon.* - 2005. – Ch. 9. – Vol.31. – P.166–194.
- 102.** Naumov, D. Effect of ADRB2 gene polymorphism on treatment outcomes in asthmatics: Cold airway hyperresponsiveness and asthma control. / D. Naumov, J. Perelman, V. Kolosov [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2014. – Vol.44, Suppl. 58. – P.4778.
- 103.** Northway, W.H. Pulmonary disease following respiratory therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia / W.H. Northway, R.C. Rosan, D.Y. Porter // *N. Engl. J. Med.* – 1967. – Vol. 276. – P. 357-68.
- 104.** Piesiak, P. The Role of Metalloproteinases in the Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. / P. Piesiak, M. Kraus–Filarska, M. Kosacka [et al.] *Adv. Clin. Exp. Med.* – 2009. - Vol.18, №3. – P.303–309.
- 105.** Poggi, C. Genetic polymorphisms of antioxidant enzymes in preterm infants / C. Poggi, B. Giusti, A. Vestri [et al.] // *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* - 2012. - Vol. 25, N 4. - P.131-134.

- 106.** Puntorieri, V. Surfactant and Matrix Metalloproteinase 3 in the Pathogenesis of Acute Lung Injury. / V. Puntorieri // Electronic Thesis and Dissertation Repository. 2015. - 2661 p.
- 107.** Rezvani, M. Association of a FGFR-4 Gene Polymorphism with Bronchopulmonary Dysplasia and Neonatal Respiratory Distress. / M. Rezvani, Ju.Wilde, P. Vitt [et al.] // Disease Markers. – 2013. – Vol.35, №6. – P.633–640.
- 108.** Robin, B. Pulmonary Function in Bronchopulmonary Dysplasia. / B. Robin, Y. J. Kim, J. Huth // Pediatric Pulmonology. – 2004. - Vol.37. - P.236-242.
- 109.** Rocha, G. HLA and bronchopulmonary dysplasia susceptibility: A pilot study. / G. Rocha, E. Proenca, A. Areias [et al.] // Dis. Markers. - 2011. - Vol.31, №4. - P.199-203.
- 110.** Rozycki, H.J. Interleukins for the Paediatric Pulmonologist. / H.J. Rozycki, W. Zhao // Paediatric Respiratory Reviews. – 2014. - Vol.15. P.56–68.
- 111.** Saeidi, R. Developmental Outcomes of Premature and Low Birth Weight Infants / R. Saeidi, Sh Rahmani, A Mohammadzadeh // IJN, - 2016. –Vol.7. – P.62-66
- 112.** Saigal, S. An overview of mortality and sequelae of preterm birth from infancy to adulthood. / S. Saigal, L.W. Doyle // Lancet. – 2008. – Vol.371, №9608, P.261-9.
- 113.** Sandri, F. CURPAP Study Group: Prophylactic or early selective surfactant combined with nCPAP in very preterm infants / F. Sandri, R. Plavka, G. Ancora [et al.] // Pediatrics. - 2010. - № 125. - P.1402—1409.
- 114.** Satija, A. Prospective analysis of preterm labour: its etiology and outcome. / A. Satija, V. Satija, J. Kaur [et al]. International Journal of Basic and Applied Medical Sciences. – 2014. - Vol.4, №2. – P.70-77.
- 115.** Schelonka, R.L. Ureaplasma Infection and Neonatal Lung Disease. / R.L. Schelonka, K.B. Waites // Seminars in Perinatology. – 2007. - Vol.31, №1. - P.2-9.
- 116.** Schittny, J.C. Evidence and structural mechanism for late lung alveolarization. / J.C. Schittny, S.I. Mund, M. Stampanoni // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2008. – Vol. 294. – P. 246–54.

- 117.** Shaw, GM. Progress in understanding the genetics of bronchopulmonary dysplasia. / G.M. Shaw, H.M. O’Brodivich // *Seminars in Perinatology*. – 2013. – Vol.37. – P.85–93.
- 118.** Simpson, J. Lung function following very preterm birth in the era of ‘new’ bronchopulmonary dysplasia / S.J. Simpson, G.L. Hall, A.C. Wilson // *Respirology*. – 2015. – Vol. 20, N.4 – P.535-540.
- 119.** Speer, C.P. Chorioamnionitis, postnatal factors and proinflammatory response in the pathogenetic sequence of bronchopulmonary dysplasia. / C.P. Speer // *Neonatology*. - 2009. - Vol.95. - P.353-361.
- 120.** Speer, C.P. Inflammation and bronchopulmonary dysplasia: a continuing story. / C.P. Speer // *Semin. Fetal Neonatal Med*. – 2006. – Vol.11, №5. –P.354-62.
- 121.** Stevens, TP. Early surfactant administration with brief ventilation vs. selective surfactant and continued mechanical ventilation for preterm infants with or at risk for respiratory distress syndrome. / T.P. Stevens, E.W. Harrington, M. Blennow // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2007: CD003063.
- 122.** Sweet, DG. European consensus guidelines on the management of neonatal respiratory distress syndrome in preterm infants / D.G. Sweet, V. Carnielli, G. Greisen [et al.] // *Neonatology*. - 2013. - Vol.353. - P.68.
- 123.** Thomas, M.R. Plethysmograph and interrupter resistance measurements in prematurely born young children. / M.R. Thomas, G.F. Rafferty, R. Blowes // *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal Ed*. – 2006. - Vol.91. – P.193–196.
- 124.** Thomas, W. Universitäts-Kinderklinik Würzburg. Bronchopulmonale Dysplasie Frühgeborener Epidemiologie, Pathogenese und Therapie. / W. Thomas, C.O. Speer // *Monatsschrift Kinderheilkd*. - 2005. - V.153. - P.211–219.
- 125.** Thomsen, M. β 2 adrenergic receptor polymorphisms, asthma and COPD: two large population based studies. / M. Thomsen, B.G. Nordestgaard // *Eur. Respir. J*. – 2012. – Vol.39. – P.558–566.
- 126.** Thunqvist, P. Lung function at 6 and 18 months after preterm birth in relation to severity of bronchopulmonary dysplasia. / P. Thunqvist, P. Gustafsson, M. Norman [et al] // *Pediatr. Pulmonol*. - 2015. – Vol.50. – P.978–986.

- 127.** Usuda, T. Interleukin-6 polymorphism and bronchopulmonary dysplasia risk in very low-birthweight infants / T. Usuda, T. Kobayashi, S. Sakakibara [et al.] // *Pediatr. Int.* - 2012. - Vol.54. - P.471-475.
- 128.** Vacca, G. Polymorphisms of the β 2 adrenoreceptor gene in chronic obstructive pulmonary disease. / G. Vacca, K. Schwabe, R. Duck [et al] // *Ther. Adv. Respir. Dis.* – 2009. – Vol.3. - P.3–10.
- 129.** Van Putte-Katier, N. Relationship between parental lung function and their children's lung function early in life./ N. van Putte-Katier, M. Koopmans, C.S.P.M. Uiterwaal [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2011. – Vol.38. – P. 664–671.
- 130.** Vento, G. Serum levels of seven cytokines in premature ventilated newborns: correlations with old and new forms of bronchopulmonary dysplasia. / G. Vento, E. Capoluongo, P.G. Matassa P.G. [et al.] // *Intensive Care Med.* - 2006. - Vol.3. - P.723-730.
- 131.** Viscardi, R.M. Perinatal inflammation and lung injury. / R.M. Viscardi // *Semin. Fetal. Neonatal. Med.* – 2012. - Vol.17. P.30–5.
- 132.** Vogel, E.R. Perinatal oxygen in the developing lung. / E.R. Vogel, R.D. Britt, M. C. Trinidad [et al] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* - 2015. – Vol.93. – P.119–127.
- 133.** Von Neergaard, K. Die Messung des Strömungswiderstande in den Atemwegen des Menschen, insbesondere bei Asthma und Emphysema. / K. Von Neergaard, K. Wirz // *Zschr. Klin. Med.* – 1927. – Vol.105. - P.51–82.
- 134.** Wheeler, K. Volume-targeted versus pressure-limited ventilation in the neonate. / K. Wheeler, C. Klingenberg, N. McCallion // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2010;11(11): CD003666.
- 135.** Wright, C.J. Targeting inflammation to prevent bronchopulmonary dysplasia: can new insights be translated into therapies? / C.J. Wright // *Pediatrics.* – 2011. - Vol.128. – P.111 – 126.
- 136.** Yamashita, C.M. Matrix metalloproteinase 3 is a mediator of pulmonary fibrosis. / C.M. Yamashita, L. Dolgonos, R.L. Zemans [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2011. - Vol.179. – P.1733–1745.

Приложение №1

		АНКЕТА РЕБЕНКА №1 (БЛД)	
1	Контактный телефон		
2	ФИО ребенка		
3	Дата рождения		
4	Пол	женский	Мужской
5	Срок гестации при рождении		
6	Возраст/ СВ		
7	Вес при рождении/на момент обсл.		
8	Респираторная поддержка	ИВЛ (интубация)	СРАР
		кислородная маска	
	(% кислорода, параметры), длительность		
9	Терапия сурфактантом при рождении, доза		
10	SaO ₂ на момент исследования		
11	Период БЛД	обострение	ремиссия
12	Форма БЛД	классическая	новая
13	Степень тяжести БЛД	легкая средняя	тяжелая
14	Сопутствующая паталогия в неонатальном периоде	РДС	+ -
		ПЭП, ВЖК	+ -
		ВУИ (инфекционные заболевания)	+ -
		анемия	+ -
		пороки развития	+ -
		ретинопатия	+ -
		Другое	
15	Частота обострений БЛД	на 1 году	на 2 году
16	Патология беременности	бер-ть по счету	замершая б-ть
	профвредность	м/а	хориоамнионит
	Выкидыши	ЭКО	угроза невынашивания
	другое	Многоплодная б-ть	хламидиоз, микоплазмоз, уреоплазмоз, ЦМВ, ВПГ1,2, ВИЧ, ХГВ, ХГС.
17	Социальный статус матери	образование	
		профессия	безработная
		судимость	
18	Вредные привычки	курение	наркомания
		алкоголизм	
19	Получаемая терапия на момент обследования	будесонид (ИГКС), доза	Беродуал (бронхолитик)