



Ходжиметова Шахноза Хасановна
- PhD, доцент кафедры неонатологии
Ташкентского педиатрического медицинского
института



Рахманкулова Зухра Жандаровна
- д.м.н., профессор кафедры неонатологии
Ташкентского педиатрического медицинского
института.



Камалов Зайнитдин Сайфутдинович
- д.м.н., профессор, заведующий лабораторией
иммунорегуляции Института иммунологии и
геномики человека АН РУз

ISBN 978-9910-680-04-5

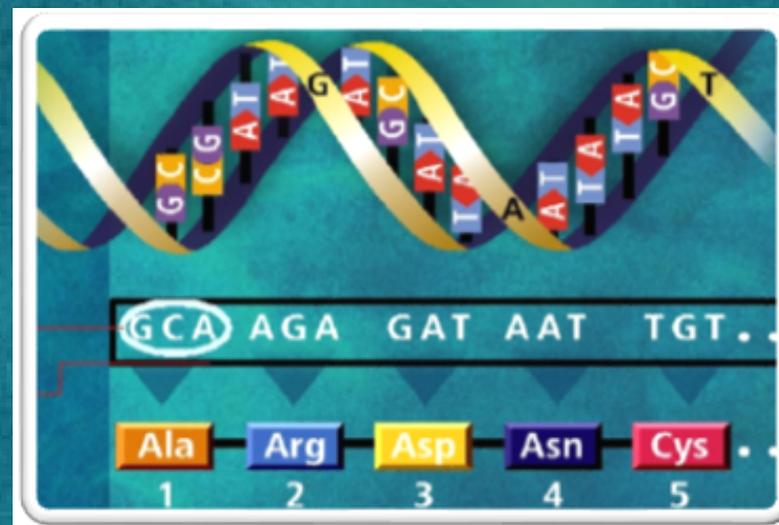


9 789910 680045

**ХОДЖИМЕТОВА Ш.Х., РАХМАНКУЛОВА З.Ж.,
КАМАЛОВ З.С.**

ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКАЯ ЭНЦЕФАЛОПАТИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ

**(клинические, иммунологические и
молекулярно-генетические аспекты)**



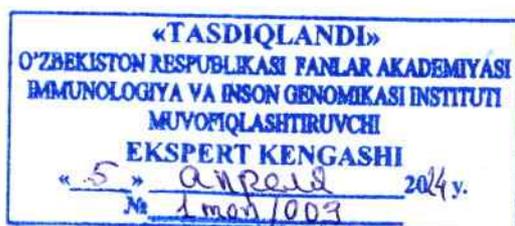
**ТАШКЕНТСКИЙ ПЕДИАТРИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИНСТИТУТ
ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ И ГЕНОМИКИ ЧЕЛОВЕКА**



ХОДЖИМЕТОВА Ш.Х., РАХМАНКУЛОВА З.Ж., КАМАЛОВ З.С.

**ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКАЯ
ЭНЦЕФАЛОПАТИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ
(клинические, иммунологические и молекулярно-
генетические аспекты)**

Монография



**Ташкент
“INNOVATSIYA-ZIYO”
2024**

УДК: 616.053.3

ББК: 56.12

Г 50

Ходжиметова Ш.Х., Рахманкулова З.Ж., Камалов З.С.

Гипоксически - ишемическая энцефалопатия у новорожденных (клинические, иммунологические и молекулярно-генетические аспекты) // Монография. – Ташкент: “INNOVATSIYA-ZIYO”, 2024. – 140 стр.

В монографии представлены результаты собственных клинических, иммунологических и молекулярно-генетических исследований по изучению механизма развития гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей и разработки новых дифференциальных подходов к профилактике и диагностике. На основании изучения определенных генов и локусов, отвечающих за гипоксически-ишемическую энцефалопатию, разработан алгоритм прогноза.

Данная монография предназначена для неонатологов, педиатров, иммунологов, врачей общей практики, а также магистров, клинических ординаторов медицинских институтов и научных сотрудников.

Рецензенты:

Зиядуллаев Ш.Х.

д.м.н., профессор, проректор по науке и инновациям СамГМУ

Файзуллаева Н.Я.

*д.м.н., с.н.с, зав. лабораторией экспериментальной иммунологии
Института иммунологии и геномики человека АН РУз*

Монография утверждена ученом советом Ташкентским педиатрическим медицинским институтом протокол № 11 от 24 апреля 2024 года и обсуждена на заседании Экспертной комиссии Института иммунологии и геномики человека АН РУз «05» апреля 2024 года, протокол № топ/003, рассмотрена, утверждена и разрешена в печать на заседании Ученого совета Института иммунологии и геномики человека АН РУз «29» апреля 2024 года, протокол №4.

ISBN 978-9910-680-04-5

© Ходжиметова Ш.Х., Рахманкулова З.Ж., Камалов З.С., 2024.

© “INNOVATSIYA-ZIYO”, 2024.

СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВЖК	-Внутрижелудочковое кровоизлияние
ВПР	-Врожденный порок развития
ГИЭ	-Гипоксически-ишемическая энцефалопатия
ФПН	-Фетоплацентарная недостаточность
ХВГП	-Хроническая внутриутробная гипоксия плода
ОРВИ	-Острая респираторно-вирусная инфекция
ОНМТ	-Очень низкая масса тела
ЭНМТ	-Экстремально низкая масса тела
ППЦНС	-Перинатальные поражения центральной нервной системы
ДЦП	-Детский церебральный паралич
ЗВУР	-Задержка внутриутробного развития
ПВК	-Перивентрикулярное кровоизлияние
ПВЛ	-Перивентрикулярная лейкомаляция
ПИВК	-Периинтравентрикулярное кровоизлияние
ТИФА	-Твердофазный иммуноферментный анализ
ЕК	-Естественные киллеры
ИКК	-Имунокомпетентные клетки
ИЛ	-Интерлейкин
ИЛ-1 β	-Интерлейкин-1 β
ИЛ-4	-Интерлейкин-4
TNF- α	-Фактор некроза
НСГ	-Нейросонография

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы проблема ишемического поражения головного мозга у новорожденных остается актуальной во всех странах мира. В настоящее время, несмотря на достижения в области диагностики и лечения гипоксически-ишемической энцефалопатии и проведения организационных и лечебных мероприятий, ее встречаемость остается на высоком уровне. Сегодня, по данным ВОЗ, «...примерно 20% детей страдают нервно-психическими заболеваниями, причиной которых в 65-80% случаев являются перинатальные поражения головного мозга»¹ Следует отметить, что ишемическое поражение головного мозга приводит к высокой смертности, к развитию в раннем детском возрасте, дисфункции головного мозга, детского церебрального паралича, эпилепсии, что обуславливает необходимость ранней диагностики, прогнозирования последствий, разработку лечебных мероприятий и их внедрение в практическую медицину.

Во всем мире особое внимание уделяется научным исследованиям, направленным на определение клинко-иммуногенетических аспектов возникновения и развития ишемического поражения головного мозга у детей, особенно у новорожденных, и совершенствование лечебных мероприятий. В связи с этим, определение факторов риска возникновения и развития ишемического поражения головного мозга у новорожденных, определение состояния биохимических и иммунологических показателей при заболевании, определение важных иммуногенетических маркеров патологии, определение механизмов клинического течения тяжелых проявлений остаются приоритетными направлениями научных исследований. Кроме того, ранняя

¹ Всемирная организация здравоохранения: <https://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail> (01.12.2020)

диагностика риска формирования ГИЭ, разработка тактики ведения, а также определение необходимых мер профилактики является одной из актуальных задач, стоящих перед специалистами в данной области.

В рамках комплексных мер по совершенствованию системы здравоохранения в нашей стране, включающих раннюю диагностику и снижение осложнений заболеваний у новорожденных, необходимо «...повысить эффективность, качество и доступность популяризации медицинской помощи, оказываемой населению в нашей стране, а также внедрить высокотехнологичные методы ранней диагностики и лечения заболеваний, путем создания патронажной службы, для поддержки здорового образа жизни, профилактики и эффективной диагностики заболеваний»² В связи с чем, необходимо определить клинические, иммуногенетические особенности развития гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей и разработать новые дифференциальные подходы к профилактике, диагностике и лечению.

На сегодняшний день изучено множество патогенетических механизмов развития ГИЭ, которые в конечном счете приводят к отеку и гибели нейронов головного мозга. Значимая роль принадлежит исследованию про- и противовоспалительных цитокинов, высвобождаемых в центральной нервной системе микроглией (Панечка А.С., Панова М.С., 2020; Шейбак Л.Н., 2015). Они представляют собой универсальную регуляторную систему медиаторов, контролирующую процессы пролиферации и дифференцировки клеточных элементов в кроветворной, иммунной и других гомеостатических системах организма (Князева А.С., 2015; Панченко А.С., Панова М.С., 2019). Так, согласно

² Постановлении Президента Республики Узбекистан ППН№3071 «О мерах по дальнейшему развитию специализированной медицинской помощи населению Республики Узбекистан на 2017-2021 годы» от 20 июня 2017 года.

исследованиям многих зарубежных авторов значительное увеличение содержания некоторых интерлейкинов (ИЛ), таких как ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF- α , а также их дисбаланс с противовоспалительными цитокинами коррелирует с тяжестью ишемического повреждения головного мозга и предопределяет неблагоприятный неврологический исход у детей (Sävman K, Blennow M., Hagberg H., 2007, Tabakman R, Lecht S, Sephanova S., 2004; Ешмоллов С. Н., Ситников И. Г., Мельникова И. М., 2018). Высокое содержание ИЛ-1 β у детей с церебральной ишемией говорит о его местном высвобождении в головном мозге после первоначального гипоксического повреждения и играет большую роль в продолжающемся нейрорповреждении (Gabriel ML, Braga F.B., Cardoso M.R., 2016).

На современном этапе развития науки все большие обороты набирает изучение генов, контролирующей активность цитокинов. Данное перспективное направление раскроет больше звеньев в патогенезе гипоксически-ишемической энцефалопатии и позволит выявить предрасположенность к заболеванию на ранних сроках, что даст возможность прогнозировать риск развития патологии или тяжесть ее течения и индивидуально подобрать специфическую терапию для конкретного пациента. Гены интерлейкинов обладают чрезвычайно высокой степенью полиморфизма, причем количество полиморфных участков в одном гене может достигать нескольких десятков (Пузырева Л.В., Сафонов А.Д., 2016). Имеющиеся на сегодняшний день данные позволяют говорить о тесной ассоциации полиморфизмов генов с разнообразной патологией, в том числе с поражением ЦНС и могут использоваться как маркеры в диагностике заболеваний, что требует дальнейшего изучения (Wu YW, Croen LA, Torres AR, 2009).

ГЛАВА I. СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА РАЗВИТИЕ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

§ 1.1. Этиопатогенетические и клинические аспекты течения гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей

В современной медицине одной из важных проблем является перинатальное поражение головного мозга у новорожденных детей. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия является одной из важных причин детской смертности и повреждения ЦНС, которая приводит к инвалидности детей, несмотря на развитие перинатальной медицины [23, 129]. Актуальной проблемой в неонатологии является ишемическое поражение центральной нервной системы плода и новорожденного, что часто связано с высокой смертностью [19,57,139, 142].

В детском возрасте до 60-80 % всех заболеваний нервной системы составляет перинатальное поражение ЦНС и занимает ведущее место в структуре перинатальной заболеваемости [28,54,65,121]. В развитых странах и США частота ГИЭ составляет 3-4% у живорожденных. [69, 147], а в России варьируется в пределах от 10 до 38 на 1000 доношенных новорожденных [16,147]. Частота встречаемости перинатальных поражений ЦНС у новорожденных детей составляет 1,8–6,0 % на 1000 живорожденных [165,134]. У 25 % выживших доношенных новорожденных, перенесших ГИЭ тяжелой степени, выявляются неврологические нарушения [112]. У большинства детей, у которых в первые 14 дней жизни обнаружены постгипоксические структурные изменения методом магнитно-резонансной томографии (МРТ) развиваются тяжелые неврологические осложнения в отдаленном периоде [49,101,107,133]. Последствия перинатальных поражений ЦНС очень разнообразны - от задержки нервно-психического развития до грубых

двигательных и интеллектуальных расстройств, поэтому могут быть частыми причинами инвалидизации и дезадаптации в детском возрасте. [191,193,194,195,196,197,198]. За десятилетний период уровень инвалидизации детей повысился на 78% [52, 81]. По данным исследований известно, что до 70% причин детской инвалидности вызваны перинатальными факторами [114, 142, 154, 226]. По данным ВОЗ, пятое место, занимает асфиксия новорожденных и в 23% всех случаев смерти новорожденных она является причиной. Причем, время возникновения асфиксии, продолжительность и выраженность гипоксии влияют на дальнейшее формирование перинатальной энцефалопатии [110, 165, 226]. В докладе ВОЗ о состоянии здоровья в мире указывается, что асфиксия в родах является причиной 23% всех неонатальных летальных исходов. Кроме того, каждый год у 1 миллиона выживших новорожденных с диагностированной асфиксией в родах высок риск развития церебрального паралича, задержки умственного развития, затруднения в освоении навыков и прочие признаки инвалидности [89, 100]. Важное значение в развитии детской инвалидности и тяжелых неврологических расстройств в будущем имеют перинатальные поражения ЦНС, что является актуальным в неонатологии [59, 118]. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия (ГИЭ) представляет собой совокупность неврологических симптомов, развивающихся у новорожденных в результате внутриутробной гипоксии. Основными условиями, при которых развивается данная патология, являются перенесенная внутриутробная гипоксия, низкая оценка по шкале Апгар, метаболический ацидоз [36, 68]. От тяжести поражения ЦНС зависит частота встречаемости неврологических осложнений. Следовательно, большинство детей с тяжёлым поражением ЦНС имеют грубые неврологические осложнения, а 50% имеют тяжёлые неврологические последствия при средней степени тяжести поражения ЦНС [23,28, 64,166].

Согласно данным ВОЗ, ГИЭ является одной из 20 ведущих причин развития инвалидности во всех возрастных группах. [110]. При тяжелой гипоксически-ишемической энцефалопатии смертность достигает 25–50 %. Однако, большинство случаев смерти приходится на 7 дней жизни и связано с развитием полиорганной недостаточности. Дети с тяжелыми формами поражения ЦНС умирают в младенчестве от аспирационной пневмонии или системных инфекций [28, 43, 47, 110, 165]. Отдаленные исходы и осложнения зависят от тяжести поражения ЦНС. Приблизительно 80 % выживших детей с ГИЭ тяжелой степени страдают грубыми неврологическими расстройствами. А дети, выжившие после средней степени тяжести поражения ЦНС, в 30–50 % случаев могут иметь тяжелые отдаленные последствия и в 10–20 % имеют легкие неврологические заболевания [198].

Клинические признаки перинатального поражения ЦНС являются неспецифическими, вследствие чего, диагностику необходимо проводить с осторожностью и изучением анамнеза, клинических и лабораторных данных. Перинатальное поражение ЦНС различают с нейроинфекциями, родовыми травмами, врожденными пороками развития, наследственными нарушениями обмена веществ, особенно при аминокислотном генезе. После рождения ребенка и при наличии признаков перенесенной тяжелой интранатальной асфиксии может быть поставлен диагноз ГИЭ [28, 76, 105, 119]. Следует отметить, что безусловно полагаться на оценку по шкале Апгар не стоит, потому что данная шкала имеет свои недостатки. Обычно полагая что низкая оценка на 1 и 5 минутах используется, как показатель перинатального поражения ЦНС и последующим её осложнений. Однако, может формироваться тяжелая степень поражения ЦНС, даже если будут отсутствовать признаки асфиксии в родах, но вследствие антенатальной и смешанной церебральной гипоксии. В данном случае стоит оценивать признаки и степень тяжести поражения ЦНС в первые 6 часов жизни или в первые сутки жизни. Первая часто используемая за рубежом,

оценка степени тяжести поражения ЦНС предложена Н.В. Sarnat и M.S. Sarnat в 1976 г. [28, 150]. Ее модификация по Hill&Volpe (1994) наиболее полезная при классификации степени энцефалопатии. Легкой, среднетяжелой и тяжелой степени энцефалопатии соответствуют этапы I, II, III [28, 97, 110, 148, 165]. Причиной появления неонатальных судорог является тяжелое поражение ЦНС. Обычно, они появляются через 12–24 часов после рождения и очень восприимчивы к действию антиконвульсантов. Раннее появление судорог у новорожденных детей связано со степенью тяжести поражения головного мозга. Тем не менее, следующие неврологические расстройства зависят от количества дней с продолжающимися судорогами. Из-за незрелости нейронных путей, соединяющих полушария мозга у новорожденных детей, отсутствуют генерализованные клонические судороги. В связи с этим у них наблюдаются фокальные клонические судороги. Неонатальные судороги связаны с высоким риском смертности и инвалидизации (включая церебральный паралич, умственную отсталость и эпилепсию) [28]. В 60% случаев неонатальные судороги связаны с перинатальной гипоксией. В случаях, когда головной мозг поврежден при ППЦНС, отмечаются предпосылки для усугубления нарушений при судорогах. После перинатальных поражений и родовых травм по литературным данным развитие эпилепсии колеблется в диапазоне от 6,6 до 67,7% [25].

У новорожденных с врожденными пороками сердца с обогащением малого круга кровообращения в неонатальном периоде гипоксически–ишемический характер поражения центральной нервной системы отмечается у 84 % детей, а гипоксически–геморрагический генез – в 16 % случаев, в клинической картине проявляется синдромами угнетения, возбуждения и гипертензионно–гидроцефальным синдромом, в независимости от срока гестации новорожденных [22]. По клиническим признакам перинатальное поражение ЦНС у новорожденных делится на 3 степени тяжести: лёгкую, среднетяжёлую и тяжёлую. Лёгкая

степень тяжести поражения ЦНС: синдром раздражения или угнетения; нарушение сна; расширенные зрачки; отсутствие судорожных приступов. Средняя степень тяжести поражения ЦНС: синдром угнетения; возможны клинические судорожные приступы. Тяжёлая степень тяжести поражения ЦНС: кома; дисфункция стволовых отделов мозга: снижение активности дыхательного центра или её отсутствие; судорожные приступы. Перинатальное поражение ЦНС является главной причиной неонатальных судорог. Они появляются через 12–24 ч после рождения, в тяжёлых случаях в течение первых часов жизни. В большинстве случаев при тяжёлой асфиксии у новорождённых детей наблюдается судорожный синдром [23]. Судорожный синдром клинически наиболее выражен в дебюте заболевания, но при применении противосудорожной терапии приступы судорог становятся субклиническими. С помощью электроэнцефалографического (ЭЭГ) мониторинга наблюдается, что в большинстве случаев судороги клинически не проявляются. Бессимптомные судороги отягощают поражение головного мозга, вследствие чего, повышается риск появления эпилепсии [23, 124]. В остром периоде перинатального поражения ЦНС по клинической картине происходит поражение пограничных зон бассейна внутренней мозговой артерии, которое проявляется развитием мышечной гипотонии, а в последующем периоде может привести к симптоматической эпилепсии и когнитивному дефициту [48, 106, 123]. Однако, по литературным данным, поражение бассейна внутренней сонной артерии проявляется когнитивными дисфункциями [120].

При поражении гиппокампа, зрительного бугра и базальных ядер отмечаются тяжелы двигательные расстройства, при этом часто встречается спастическая квадриплегия верхних конечностей [48, 125]. Поражение вентролатеральных ядер зрительного бугра и заднелатеральных отделов лентиформных ядер проявляется дискинетической формой детского церебрального паралича

при значительных сохранных когнитивных функциях. [48, 106]. Микроцефалия, зрительные нарушения, ухудшение глотания и сосания отмечаются при тяжелом двустороннем повреждении зрительных бугров и базальных ядер. Тяжелые двигательные нарушения с развитием спастических парезов приводят к патологическим изменениям задних отделов внутренней капсулы [120]. Поражение гиппокампа отмечаются у большинства новорожденных с тяжелой степенью поражения ЦНС. У умерших детей с ППЦНС патанатомическое исследование гиппокампа показало поражение клеток у всех умерших детей [151]. У 64% детей в первый год жизни отмечается легкое неврологическое расстройство, которое классифицируются как проявления перинатальной энцефалопатии и подвергается обратной динамике (в 73% случаев), что заставляет думать о транзиторном (пограничном, возрастно-обусловленном) отклонении в состоянии нервной системы [77, 85].

Согласно достижениям нейронауки в области изучения механизмов гипоксически-ишемических перинатальных повреждений (ГИПП) были определены 3 энергетические фазы развертывания патологических событий: первичная (до 6 ч с момента поражения), вторичная (от 6 до 24–48 ч от момента поражения) и отдаленная третичная (в течение нескольких недель-месяцев). При этом отдельными звеньями процесса поражения являются некроз, апоптоз, глутаматная эксайтотоксичность, окислительный стресс, воспаление, ангио- и нейрогенез [31].

Факторы риска развития перинатального поражения ЦНС можно подразделить на следующие основные группы: отягощенный акушерский анамнез, патологическое течение беременности и родов, общее состояние ребенка после родов (асфиксия, необходимость в проведении реанимационных мероприятий), сопутствующие заболевания у ребенка [59, 70, 90, 118].

Основной причиной ГИЭ у новорожденных и детей раннего возраста являются родовые травмы различной

природы, общий наследственный фон организма, его генотип, определяющий характер реакции на то или иное внешнее воздействие. Клинико-генеалогический анализ выявил более высокую частоту встречаемости ГИЭ у родственников первой степени родства, в сравнении с родословными группы детей, не имевших ее (соответственно в 49,0% и 9,8%). Наследственная отягощенность по данным признакам оказалась более высокой при тяжелых формах энцефалопатии (52,9%), нежели при её среднетяжелых формах (31,4%) и тем более при легком течении (15,7%) заболевания [83]. Большие трудности вызывает установление причины острой перинатальной гипоксии у детей [20, 137] поэтому в детском возрасте в 20-30 % случаев проходят под другими ошибочными диагнозами [115]. Важным, значимым методом диагностики патологии головного мозга у новорожденных детей является нейросонография (НСГ). Этот метод – неинвазивный, позволяет проводить многократное исследования, так как отсутствует лучевая нагрузка. При помощи НСГ мы можем установить ПВК, ишемическое поражение мозговой ткани и подкорковых ядер, умеренную гипоксию, СЭК, гидроцефалию, отек мозга, лейкомаляцию и ВЖК [20, 80]. Предрасполагающими факторами развития ГИЭ являются различные соматические заболевания матери, гестозы беременной, угрозы выкидыша, иммунологические отклонения в системе «мать–плацента–плод», травматические, токсические, стрессовые воздействия, бытовые и профессиональные вредности. На протяжении многих лет гипоксия считается основным этиопатогенетическим фактором возникновения и развития перинатального поражения ЦНС [14, 131,146].

Следствием перенесенной перинатальной асфиксии является гипоксически-ишемическая энцефалопатия (ГИЭ), при которой повреждение головного мозга плода и новорожденного вызвано гипоксемией и слабой перфузией достаточной силы и продолжительности, чтобы привести к функциональным и биохимическим изменениям и тяжелым

нарушениям энергетического обмена. Оба основных механизма патогенеза ГИЭ связаны с двумя фазами патологических событий – первичной и вторичной энергетической недостаточностью, основанных на особенностях состояния энергетики мозга [89, 131,146].

§ 1.2. Современные представления о роли цитокинов в патогенезе гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей

Цитокины считаются самой важной и универсальной группой гуморальных факторов системы иммунитета, это белковые, полипептидные элементы, без специфичности в отношении антигенов, которые производятся преимущественно активированными клетками кроветворной и иммунной систем и опосредующие межклеточные взаимодействия при кроветворении, воспалении, иммунных процессах и межсистемных коммуникациях [10, 21,32,95]. В иммунной системе цитокины взаимодействуют между неспецифическими защитными реакциями и специфическим иммунитетом. Примером цитокиновой регуляции специфического иммунитета является поддержание баланса между Т-лимфоцитами хелперами 1-го (Th1) и 2-го (Th2) типов, и дифференцировка [21]. За последнее время изучено множество патогенетических механизмов развития ГИЭ, которые в конечном счете приводят к отеку и гибели нейронов головного мозга [57, 63, 91, 92]. Важная роль относится к исследованию про- и противовоспалительных цитокинов, которые высвобождаются микроглией. Они являют собой универсальную регуляторную систему медиаторов, которые контролируют процессы пролиферации и дифференциации клеточных элементов в гомеостатических системах организма [33, 36, 57]. Важно отметить, что концентрация про- и противовоспалительных цитокинов может быть основным фактором клинического состояния ребенка, а также помогает определить неврологические

исходы у детей [57, 152]. У новорожденных детей в иммунной системе одним из основных механизмов является активация системы цитокинов, которые производятся клетками головного мозга (астроцитами) [45]. Процессы воспаления при гипоксии-ишемии у новорожденного усиливают повреждение мозга, однако у взрослого человека они исполняют защитную функцию. В большинстве случаев воспаление приводит к рубцово-глиозным изменениям белого вещества головного мозга. По данным исследований незрелый мозг наиболее чувствителен к свободно радикальному повреждению при окислительном стрессе в результате слаборазвитых поглощающих систем и высокой доступности железа для образования гидроксильных радикалов. Зону повреждения, которое первично ограничено селективным некрозом, значительно расширяет апоптоз нейронов при дополнительном участии нейро- и ангиогенеза. [31].

Исследование зарубежных авторов показало, что увеличение содержания ИЛ-1 β ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , а также их дисбаланс с противовоспалительными цитокинами взаимообусловлен тяжестью ишемического поражения головного мозга и приводит неблагоприятному неврологическому исходу у детей [57, 109, 145]. При первичном гипоксическом поражении головного мозга высокое содержание ИЛ-1 β (по сравнению с другими цитокинами) у детей с церебральной ишемией свидетельствует о его местном высвобождении в головном мозге и играет большую роль в продолжающемся нейроповреждении [57, 127].

Исследования показали, что ИЛ-1 β стимулирует выработку оксида азота (NO), являющегося одним из важных регуляторов тонуса мозговых сосудов, что приводит к повреждению нейронов плода (в эксперименте на животных) [63]. Также этот цитокин увеличивает выработку ИЛ-8 [57, 138, 159]. Параллельно с изучением повреждающего действия ИЛ-1 β на ЦНС ведутся работы по влиянию естественного

ингибитора — антагониста ИЛ-1-рецептора (ИЛ-1RA) с целью его возможного использования для лечения инсульта и других заболеваний [57, 109, 149]. Обнаружено, что выживаемость мышей с церебральной ишемией при введении ИЛ-1RA (в отличие от пирацетама) достоверно увеличивается вдвое [93]. TNF- α является главным провоспалительным цитокином, выработка которого регулируется на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях [57; 102]. ФНО- α увеличивает производство ИЛ-1 и ИЛ-6, что усиливает к нему чувствительность тканей [57, 104]. Повышенная продукция ФНО- α в микроглии и высокий уровень в спинномозговой жидкости взаимосвязан с перивентрикулярной лейкомаляцией и постгеморрагической вентрикуломегалией, что в может привести к неврологическому расстройству [57, 145]. Однако по многочисленным исследованиям роль этого цитокина двойка. Некоторые исследования показывают губительное влияние ФНО- α на головной мозг [108] в то время как другие доказывают, что TNF- α играет важную роль в восстановлении после поражения ЦНС [57, 152].

Таким образом, некоторые интерлейкины могут иметь нейротективное действие и показывать повреждающий эффект [21]. TNF- α индуцирует лихорадку, лейкоцитоз, анорексию, кахексию, синтез острофазных белков гепатоцитами, а также активизирует гранулоциты, моноциты и макрофаги [32].

TNF- α с ИЛ-1 входят в группу провоспалительных цитокинов с перекрывающимися биологическими свойствами: способностью стимулировать Т- и В-лимфоциты, инициировать или супрессировать экспрессию определенных генов, усиливать клеточную пролиферацию [21]. Большинство провоспалительных эффектов ИЛ-1 производится в синергизме с TNF- α : индукция лихорадки, анорексии, роль в патогенезе эндотоксического (септического) шока, влияние на гемопоэз, участие в неспецифической противинфекционной защите [6]. В

некоторых исследованиях было определено, что в сыворотке крови недоношенных детей при гипоксии ФНО- α производится в большем количестве [2, 79]. ИЛ-6 представляет собой провоспалительный цитокин, медиатор межклеточного взаимодействия Т- и В-лимфоцитов. От уровня ИЛ-6 зависит степень тяжести поражения ЦНС и высокая вероятность повторных судорог после перенесенной асфиксии у новорожденных [132]. Концентрации провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 β и ИЛ-6, в головном мозге показывают степень поражения головного мозга [57, 126, 164]. Однако, некоторые исследования показали, что связи между повышением уровня ИЛ-1 β и степенью поражения ЦНС у новорожденных обнаружено не было [16]. ИЛ-10 представляет собой противовоспалительный цитокин. Выработка его осуществляется активированными Т-лимфоцитами (клонами Th0, Th1 и Th2), Т лимфоцитами, активированными тучными клетками, В-лимфоцитами, активированными липополисахаридом моноцитами и макрофагами [32, 57]. Как известно, ИЛ-10 снижает секрецию активированными моноцитами ИЛ-1 β , TNF- α и ИЛ-6, интерферона, пролиферативный ответ Т-клеток на антигены и митогены [5, 57]. Однозначно ИЛ-10 нельзя считать иммуносупрессивным цитокином, поскольку в определенных условиях он может активировать Т-клетки с цитотоксическим действием и стимулировать синтез иммуноглобулинов. Таким образом, данный цитокин при нейродегенеративных заболеваниях уменьшает деструктивные процессы в мозговой ткани [57, 128]. Кроме ИЛ-10 противовоспалительный эффект оказывают ИЛ-4 и ИЛ-13, которые являются мощными активаторами В-лимфоцитов. В динамике раннего неонатального периода концентрация TNF- α увеличивается, а повышенная продукция ИЛ-6 сохраняется до первой недели жизни, также содержание ИЛ-1 β к 7-м суткам жизни снижается до уровня здоровых детей. Проблема гипоксии и асфиксии всё же остается актуальной несмотря на

стремительно развивающиеся успехи в оказании помощи беременным и новорожденным детям. Патологическое течение беременности, родов и/или рождение ребенка в асфиксии может в дальнейшем привести к развитию таких заболеваний, как детским церебральный паралич, эпилепсия, минимальная мозговая дисфункция, а также к смерти [27, 37, 61, 63]. Важная роль в патогенезе гипоксических заболеваний на молекулярном уровне принадлежит про- и противовоспалительным цитокинам, высвобождаемых в центральной нервной системе микроглией. Согласно исследованиям, как отечественных, так и зарубежных авторов, значительное увеличение содержания некоторых ИЛ, таких как ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, а также их дисбаланс с противовоспалительными цитокинами, таким как ИЛ-4, ИЛ-10, взаимосвязано с тяжестью ишемического повреждения головного мозга и определяет неблагоприятный неврологический исход у новорожденных [61, 84, 87, 94]. У новорожденных детей гипоксическое состояние может массово инициировать воспалительную реакцию. Активированные микроглиальные клетки и астроциты синтезируют различные иммуноактивные молекулы, такие как цитокины, факторы роста и хемоаттрактанты. Микроглиальный фагоцитоз оказывает содействие восстановлению тканевого гомеостаза путем очистки от некротических клеток [103, 113, 144].

Известно, что иммунная система играет значимую роль в патогенезе, в клиническом течении и в исходе гипоксических, а также инфекционных заболеваний у новорождённых детей. Важным информативным показателем состояния иммунной системы ребенка в периоде адаптации служит уровень продукции цитокинов — полипептидных медиаторов, обеспечивающих взаимосвязь различных систем организма. Стоит отметить, что выброс про- и противовоспалительных цитокинов, и белков острой фазы является неспецифической реакцией иммунокомпетентных клеток на антигенный стимул любой природы. Многие исследователи указывают на

значимую диагностическую ценность определения уровня интерлейкина ИЛ-6, TNF- α , ИЛ-8 в крови у новорожденных при инфекционной патологии [65, 88]. Другие авторы подтверждают преимущественное значение данных цитокинов при оценке неврологических нарушений [11, 87]. Высокое содержание ИЛ-8 в пуповинной и периферической крови новорожденных на протяжении первой недели жизни и повышение показателя С-реактивного протеина на 5—7-е сутки жизни является прогностически значимым маркером перинатальной патологии инфекционного и неинфекционного генеза [87]. Как известно, в ЦНС ИЛ-10 синтезируется микроглией и астроцитами. Данный цитокин играет важную роль в снижении деструктивных процессов в мозговой ткани при нейродегенеративных заболеваниях (болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона), инсульте и поведенческих нарушениях вызванных бактериальной инфекцией, а также при менингитах. У новорожденных глубокая морфофункциональная незрелость органов и систем в сочетании с гипоксией и инфекцией создает основу формирования целого ряда перинатальных осложнений, нарушающих адаптацию в первые дни после рождения ребенка и ухудшающих качество его дальнейшей жизни. Повышенная концентрация провоспалительных цитокинов в амниотической жидкости плода и пуповинной крови, в том числе ИЛ-6, свидетельствует о перенесенной внутриутробной инфекции и высоком риске поражения белого вещества мозга. Из этого следует большой риск дальнейшего развития детского церебрального паралича. Уровень концентрации про- и противовоспалительных цитокинов в крови у новорожденных детей с выраженным дефицитом массы тела (ЗВУР) связан с характером перинатальных осложнений. Высокий уровень ИЛ-10, интерлейкина-1 и крайне низкие концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови в дальнейшем свидетельствуют о неблагоприятном прогностическом состоянии [15, 44].

Роль воспаления в развитии гипоксически- ишемического повреждения центральной нервной системы (ЦНС) у новорожденных детей доказана во многих научных работах, однако в последнее время внимание исследователей привлекает изучение различных аспектов влияния системного фетального воспалительного ответа (СФВО) на возникновение интранатальной асфиксии и развитие гипоксически-ишемического повреждения головного мозга [116, 73]. Некоторыми исследованиями показано что, при перинатальных поражениях ЦНС у новорожденных от матерей с гестозами развивается системный воспалительный ответ, который характеризуется повышением концентрации провоспалительных цитокинов в крови и ликворе, расстройствами гемокоагуляции, нарушениями клеточного и гуморального (В-лимфоциты) иммунитета, увеличением уровня активированных моноцитов [72].

§1.3. Генетические предикторы возникновения гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей

Гипоксически-ишемическое поражение головного мозга является определяющим фактором перинатального поражения центральной нервной системы (ЦНС) у новорожденных детей. Раннее выявление и поиск маркеров этого заболевания является одной из наиболее актуальных проблем современной педиатрии [42, 24].

Важнейшей задачей представляется изучение процессов, которые влияют на течение и прогнозирование исходов перинатального поражения ЦНС у детей, и механизмов действия защиты мозга в неонатальном периоде [63]. При исследовании патогенеза различных заболеваний большое внимание уделяется патогенетическим механизмам, происходящим на клеточном и молекулярно-генетическом уровнях, в том числе роли цитокинов. Они являются медиаторами воспаления. По данным авторов гены

контролируют активность цитокинов и являются одной из значительных задач в выявлении патогенетических звеньев инициации, а также прогнозируют предрасположенность к заболеваниям на ранних сроках. [71, 69]. Гены интерлейкинов обладают очень высокой степенью полиморфизма [9]. До настоящего времени достаточно обширно изучен, полиморфизм провоспалительных цитокинов. Например, фактор некроза опухоли (TNF- α) - представляет собой белок, синтезируемый различными клетками (моноцитами/макрофагами, нейтрофилами, Т-лимфоцитами, натуральными киллерами, тучными клетками) и играющим ключевую роль в развитии воспалительного ответа (инициирует синтез ИЛ-1, ИЛ-6, активирует макрофаги, пролиферацию Т- и В-лимфоцитов [57, 69, 162]. TNF- α имеет большое влияние в патогенезе большей части инфекционных и иммунопатологических заболеваний. Также TNF- α имеет различные функции. Он главным образом выступает в качестве медиатора развития реакций врожденного иммунитета.

Цитокины определяют сложные межклеточные кооперативные взаимоотношения иммунокомпетентных клеток и при этом имеют свой генетический маркер [71, 69]. Цитокины играют существенную роль в контроле всех стадий развития и поддержания аллергических реакций и воспаления, поэтому анализ регуляции их активности имеет очень большое значение для понимания молекулярных основ патогенеза многих заболеваний [97, 130, 69]. На современном этапе развития науки наибольшее значение имеет исследование генов, так как активность цитокинов контролируют гены. Это перспективное направление раскроет больше звеньев в патогенезе гипоксически-ишемической энцефалопатии и позволит выявить предрасположенность к заболеванию на ранних этапах, что даст возможность прогнозировать риск развития патологии или тяжесть ее течения и индивидуально подобрать специфическую терапию для конкретного пациента [69]. По

данным авторов известно, что, гены интерлейкинов имеют чрезвычайно высокую степень полиморфизма, так как в одном гене количество полиморфных участков может достигать нескольких десятков [18, 69]. Согласно сегодняшним исследованиям можно сказать о тесной ассоциации полиморфизмов генов с разнообразной патологией, в том числе поражение ЦНС и возможно использоваться их, как маркеры в диагностике заболеваний [57, 160]. При исследовании цитокиновой системы у недоношенных детей с церебральной ишемией выявлен полиморфизм аллельных вариантов генов TNF- α — T-1031C, C-857T, G-308A, G-238A, провоспалительного цитокина ИЛ-1 β — C-511T, C-3954T, а также ИЛ-6 — C-174G [57, 122, 137, 163]. Интересно, что в группе доношенных детей с церебральной ишемией носительство аллельной частоты ИЛ-1 β — 511-T значительно выше по сравнению с недоношенными и группой здоровых детей [168]. Отмечена взаимосвязь развития синдрома дефицита внимания в будущем с носительством генетических полиморфизмов генов ИЛ-6, TNF- α . Выявлена определенная связь между полиморфизмом TNF- α — 1031T/с, ИЛ-1 β — 511C/Т, ИЛ-10 — 1082G/A и развитием перивентрикулярной лейкомаляции [117]. Пациенты, имеющие генетический полиморфизм ИЛ-1 β — 1470G/с, 511T/С, 31C/Т, более подвержены возникновению воспалительного процесса [57,156]. Полиморфизм гена ИЛ-6 выступает фактором риска развития ДЦП у доношенных новорожденных. По сравнению с генотипом GG, менее распространенный генотип CC был связан с повышенным риском ишемического поражения головного мозга [57, 160]. Охарактеризован ряд полиморфизмов 5-промоторного региона гена ИЛ-10 [57, 87].

У взрослого населения с хронической ишемией мозга выявлена ассоциация заболевания с носительством полиморфных локусов генов цитокинов ИЛ-1 β (T-31C), ИЛ-4 (C-589T) [37]. Носительство аллельного полиморфизма цитокинов, особенно ИЛ-1 β — 31C, ИЛ-2 — 330G, ИЛ-6 — 174G,

ИЛ-10 — 1082А и TNF- α — 308А, в меньшей степени у здоровых и в большей у больных влияло на концентрацию цитокинов в плазме крови, в большинстве случаев значительно увеличивая уровень ИЛ-1 β , ИЛ-1RA, TNF- α , незначительно ИЛ-10. Максимальное повышение концентрации провоспалительных и снижение противовоспалительных интерлейкинов в крови было у больных - носителей ИЛ-1 β - 31С, TNF- α - 308А, ИЛ-6 - 174G комплекса аллелей.

Таким образом, вопрос изучения молекулярно-генетических механизмов возникновения гипоксически-ишемической энцефалопатии у недоношенных новорожденных детей является актуальным. Согласно современным литературным данным цитокины играют немаловажную роль в нейрповреждении, а исследование частоты аллелей и генотипов их генетического полиморфизма позволит в ближайшем будущем прогнозировать возникновение заболевания до появления его клинических симптомов [57].

На сегодняшний день формирующей молодой наукой является нейрогенетика. В общепринятую концепцию развития мозга в норме и патологии нейрогенетика вносит значительный и немаловажный вклад вследствие этого ученые не только могут расставить новые акценты в традиционные представления о происхождении заболеваний, но и полностью пересмотреть свой взгляд на проблему развития патологии. Благодаря этому появились новые данные о нейрогенетике перинатальных поражений центральной нервной системы (ЦНС). Генетические факторы в разной степени оказывают влияние на гипоксически-ишемические перинатальные поражения ЦНС. При этом в большинстве случаев не изученным остается детерминация недоношенности. Таким образом, появляется все больше данных о немаловажных эпигенетических механизмах регуляции нейроэкспрессии, вызываемых гипоксией, нарушением питания беременной, курением, приемом

алкоголя, наркотиков, стрессами, которые либо напрямую повреждают развивающийся мозг, либо развивают мозговой фенотип, чувствительный к перинатальному поражению ЦНС [31]. Новые данные заставляют менять подходы к профилактике перинатальных поражений ЦНС [31,98,115, 116]. Степень генетической детерминации перинатальных поражений ЦНС неодинакова в различных случаях и может варьировать в широких пределах. Недоношенность является прямым механизмом генетического предопределения перинатальных поражений ЦНС. Недооцененный, масштаб влияния имеется в эпигенетических регуляциях нейроэкспрессии.

Все основные этиопатогенетические факторы гипоксически-ишемических перинатальных поражений ЦНС (гипоксия, нарушения питания беременной, стрессы, курение, прием алкоголя, наркотиков, недоношенность), помимо прямого воздействия на мозг, обладают способностью вызывать эпигенетические изменения нейроэкспрессии с формированием мозгового фенотипа, чувствительного к перинатальному поражению. Причем эти стрессоры могут действовать в малых экспозициях, кратковременно или длительно, а также в различные периоды беременности, а если говорить о родительских геномах — и до зачатия. Это дополняет представление о патогенезе перинатальных поражений ЦНС и дает объяснение тому, каким образом перинатальные поражения ЦНС могут развиваться у матерей с внешне благополучным течением беременности и отсутствием очевидных прямых повреждающих факторов, а также почему в некоторых случаях клиническая картина повреждения не соответствует силе и длительности повреждающего фактора. Безусловно, дальнейшие исследования детализируют генетические влияния на перинатальные поражения ЦНС и уточнят их механизмы и клинические корреляции [31]. При повреждении «незрелых» церебральных клеток у новорожденных, особенно у

недоношенных детей, основным механизмом клеточной смерти является апоптоз [155].

На сегодняшний день взгляды ученых все чаще обращены на воспаление - процесс, лежащий не только в основе многих факторов риска, но и влияющий на течение самого заболевания. В частности, показано, что в головном мозге при острой цереброваскулярной патологии, кроме ишемических также имеются и иммунологические механизмы, влияющие на проницаемость сосудистой стенки, инициирующие локальное воспаление и аутоиммунную агрессию к нервной ткани. [4, 66, 104, 134, 136]. Важно изучение генов, контролирующей активность цитокинов, так как они являются медиаторами воспаления [108] и обладают [108] чрезвычайно высокой степенью полиморфизма [60], причем количество полиморфных участков в одном гене может достигать нескольких десятков и располагаться они могут как в кодирующих экзонах, так и интронах, и, что особенно важно, в промоторных регуляторных зонах гена. Генетически качественно или количественно измененные молекулы цитокинов влияют на иммунный ответ и развитие воспалительных реакций [47, 132, 142]. Жестко регулируется генетическими механизмами образование и высвобождение высокоактивных молекул [75, 112], которые до настоящего времени изучены недостаточно. Известно, что функционирование цитокиновой сети в норме и при патологии базируется на механизмах, лежащих в основе регуляции экспрессии генов цитокинов [12, 96]. Экспрессия генов подразумевает под собой процесс реализации закодированной в структуре ДНК информации на уровне мРНК и белков и начинается с транскрипции их нуклеотидной последовательности. В норме многие гены не экспрессируются, а степень экспрессии других имеет высокую индивидуальную вариабельность. Патологический процесс может приводить к активации заинтересованных генов или к репрессии активных. Это предоставляет клеткам широкие возможности для изменчивости, обеспечивающей

приспособленность их фенотипов к разнообразным условиям среды и физиологическим воздействиям. Часто гены экспрессируются последовательно: активация одного гена вызывает экспрессию другого или нескольких генов, что приводит к каскаду событий [57]. Уровень экспрессии в определенной степени зависит от полиморфизма генов. Однонуклеотидный полиморфизм содержится в отличии последовательности ДНК размером в один нуклеотид между гомологичными участками гомологичных хромосом. В результате точечных мутаций возникают такие отличия, способствующие развитию заболевания полиморфность вариантов. Это обуславливает необходимость исследования индивидуального генетического профиля для разработки стратегии превентивной и предикативной корректировки образа жизни каждого человека. Отметим также, что изучение экспрессии отдельных генов цитокинов и их генных кластеров способствует решению одной из важнейших проблем молекулярной биологии – исследованию механизмов регуляции экспрессии генов эукариот [12, 96]. Генетически детерминированная дисрегуляция цитокинов ведет к инициации не только хронических воспалительных процессов, но и к генерализированным нарушениям. Известно, что дисбаланс в продукции белков, например, семейства интерлейкин-1 (ИЛ-1 β , ИЛ1RA, ИЛ1RI), влияет на характер протекания воспалительных заболеваний и является одним из пусковых механизмов патологических процессов [8, 12].

В последние годы накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что полиморфизм генов цитокинов и их рецепторов вносит значительный вклад в содержание конечных продуктов экспрессии, оказывая тем самым и на процессоры, которые регулируют эти медиаторы. В качестве метода терапии — это может оказывать влияние на результативность применения ингибитора транскрипции определенного цитокина. Для гена TNF- α и его рецепторов, а также гена ИЛ-1 β известен целый ряд полиморфных

вариантов в промоторных и интронных областях, которые сгруппированы с повышенной или пониженной продукцией цитокина, в том числе с развитием целого ряда онкологических, аутоиммунных и инфекционных заболеваний, в которых ключевую роль играют цитокины [56, 162]. Противовоспалительный цитокин ИЛ-10 играет немаловажную роль в развитии и формировании многих патологических состояний. Как известно, ИЛ-10 способен замедлять повреждение и тромбоз атеросклеротической бляшки в следствии угнетения активности макрофагов. Они являются основными триггерами гиперкоагуляции, ингибированию продукции провоспалительных цитокинов, а также снижению экспрессии тканевого фактора [53]. Экспрессия ИЛ-10 обеспечивает защиту нейронов и глиальных клеток мозга преимущественно за счет ингибирования проапоптотических цитокинов и стимулирования защитных сигнальных реакций. В исследованиях на моно- и дизиготных близнецах установлено, что межиндивидуальная вариабельность по концентрации ИЛ-10 в значительной мере (50–70 %) обусловлена генетическими [12, 53].

Таким образом по данным исследования многих авторов показано что цитокиновая система является центральным регулятором гомеостаза, обладающим широким спектром биологических эффектов. Функционирование цитокиновой сети базируется на механизмах, лежащих в основе регуляции экспрессии генов цитокинов. Ключевую роль в развитии и течении многих патологических процессов в организме человека могут играть генетические факторы: аллельные варианты полиморфных локусов, эпистатическое влияние и экспрессия генов, которые важно учитывать при диагностике и выработке схемы лечения.

ГЛАВА II. ОБЪЕМ И МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

§ 2.1. Общая характеристика обследованных новорожденных детей

В данном исследовании в ходе работы были проведены клинико-инструментальные исследования новорожденных в Городском Перинатальном Центре №1 и отделениях патологии новорожденных на базе 5-й городской детской больницы. Иммунологические и генетические исследования были проведены в институте Иммунологии и геномики человека АН РУз.

Для решения поставленных задач нами было обследовано 215 матери и их новорожденные, которые были разделены на основную и контрольную группы. В основную группу были включены 120 недоношенных новорожденных детей с основным клиническим диагнозом «энцефалопатия новорожденных гипоксически-ишемического генеза» (МКБ-10: P91.0). В зависимости от тяжести гипоксического поражения ЦНС новорожденные были разделены на 3 группы: 1-группа (n-39) – новорожденные с церебральной ишемией 1-й степени (легкой); 2-группа (n-37) – новорожденные с церебральной ишемией 2-й степени (средней тяжести); 3-группа (n-44) – новорожденные с церебральной ишемией 3-й степени (тяжелой).

Группу контроля составили 95 практически здоровых новорожденных ребенка, родившихся от матерей с благоприятно протекавшей беременностью, с нормальной оценкой по шкале Апгар при рождении, не имевшие внутриутробную гипоксию, с физиологическим течением раннего периода адаптации. Критерии исключения из исследования: врожденные и наследственные заболевания нервной системы.

Критерии включения в исследование: новорожденные дети, имеющие клинические признаки перинатальной гипоксически-ишемической энцефалопатии.

Критериями для оценки степени тяжести поражения ЦНС явились: при поражении тяжелой степени – церебральная ишемия I-III степени, синдром угнетения, кома, быстро и медленно прогрессирующая внутричерепная гипертензия, шок, судороги, апноэ, дисфункция стволовых клеток мозга, вегето-висцеральные нарушения, при средней тяжести поражения ЦНС – пребральная ишемия I-II степени, внутрижелудочковые кровоизлияния I-II степени, возбуждение или угнетение ЦНС, судороги, внутричерепная гипертензия, вегетовисцеральные нарушения.

Учитывая тот факт, что гестационный возраст, отражающий степень зрелости ребенка влияет на морфологические особенности, локализацию повреждений головного мозга, на характер патологических состояний в неонатальном периоде, нами был проведен анализ гестационного возраста наблюдаемых новорожденных детей. Так, средний гестационный возраст новорожденных в 1-й группе составил - $36,0 \pm 0,2$, во 2-й - $35,5 \pm 0,3$ и в 3-й $34,3 \pm 0,2$ недель (табл.2.1).

Таблица 2.1.

Общая характеристика обследованных новорожденных детей

Показатели	1-я группа n- 39	2-я группа n- 36	3-я группа n- 35	Группа контроля n- 34
Гестационный возраст, недели	$36,0 \pm 0,2$	$35,5 \pm 0,3$	$34,3 \pm 0,2$	$39,0 \pm 0,1$
Пол: мальчики, (%) девочки, (%)	$43,6 \pm 7,9$ $56,4 \pm 7,9$	$55,6 \pm 8,3$ $44,4 \pm 8,3$	$77,1 \pm 7,1$ $22,9 \pm 7,1$	$55,8 \pm 1,5$ $44,2 \pm 1,5$
ОША на 1-й мин.	$6,0 \pm 0,2$	$5,8 \pm 0,2$	$3,7 \pm 0,3$	$7,7 \pm 0,07$
ОША на 5-й мин.	$7,3 \pm 0,1$	$6,7 \pm 0,2$	$5,2 \pm 0,3$	$8,7 \pm 0,07$

Средняя масса тела при рождении, г	2306,1±36,2	2233,7±54,6	2025,9±103,4	3567,0±69,6
Средняя длина тела, см	42,9±0,4	41,2±0,3	41,7±0,6	52,8±0,3

Наши исследования показали, что в 1-й группе среди обследованных новорожденных несколько преобладали девочки – 56,4%, мальчиков было меньше - 43,6%, во 2-й и 3-й группе преобладали мальчики, соответственно - 55,6% и 77,1%). В группе контроля также больше было мальчиков – 55,8%.

В основной группе новорожденных наиболее высокие оценки по шкале Апгар на 1-й минуте жизни были у новорожденных детей с 1-й степенью ГИЭ и составили $6,0 \pm 0,2$ балла, на 5-й минуте жизни $7,3 \pm 0,1$ балла, в группе сравнения эти показатели были несколько ниже – $5,8 \pm 0,1$ и $6,7 \pm 0,2$. Самые низкие оценки по шкале были выявлены у детей с ГИЭ 3-степени - $3,7 \pm 0,3$ на 1-й минуте и $5,2 \pm 0,3$ на 5-й минуте.

При анализе физического развития наблюдаемых детей было выявлено, что средняя масса тела и длина тела при рождении у детей 1-й группы были несколько больше, чем во 2-й и 3-й группе. Наименьшая масса тела при рождении была выявлена у детей 3-й группы и составила $2025,9 \pm 103,4$ г. Средние показатели длины тела у новорожденных детей 2-й и 3-й группы были практически одинаковы. Полученные данные свидетельствуют о том, что по-своему гестационному возрасту, по данным физического развития наблюдаемые недоношенные новорожденные не имели существенных различий, что позволяет считать данные группы детей сопоставимыми в ходе анализа дальнейших исследований.

§2.2. Методы исследования

§2.2.1 Клинические методы исследования

С целью проведения клинико-анамнестических исследований были проанализированы истории родов (Форма №98), истории развития новорожденных (Форма №003/у), истории болезни новорожденных (Форма №097/х). Изучено состояние здоровья матерей, проведен анализ их акушерско-гинекологического анамнеза, течения беременности и родов.

Клиническое наблюдение за новорожденными детьми проводилось в динамике, в течение всего неонатального периода. При первом клиническом осмотре учитывались данные о состоянии ребенка при рождении, оценки по шкале Апгар. Была проведена оценка общего состояния. При клиническом обследовании новорожденных детей и их общем внешнем осмотре обращали внимание на пропорции тела, размеры и форму головы, реакцию на осмотр, выражение лица, коммуникабельность, крик, степень активности (бодрствование, сознание), позу, мышечный тонус, двигательную активность, физиологические рефлексы новорожденных. Проведен осмотр органов по системам, обследован неврологический статус с оценкой физиологических и патологических рефлексов. Проводились также антропометрические измерения массы и длины тела, окружности головы и груди новорожденных.

§2.2.2. Иммунологические методы исследования

Объектом иммунологического исследования была венозная кровь новорожденных детей. Иммунологические исследования проводились в лаборатории иммунорегуляции Института иммунологии и геномики человека АН РУз (заведующий лабораторией, д.м.н., профессор Камалов З.С.).

В ходе работы иммунологическое обследование было проведено у 105 новорожденных детей, из них основную группу составили 75 недоношенных детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией: в 1-группу вошли 25 новорожденных с ГИЭ 1 степени, во 2-группу - 27 новорожденных с ГИЭ 2 степени, в 3- группу – 23 ребенка с ГИЭ 3 степени. Группу контроля составили 30 практически здоровых доношенных новорожденных детей.

Материалом для иммунологических исследований явилась сыворотка пуповинной и венозной крови. Забор крови для изучения содержания в ней медиаторов воспаления из пуповины новорожденного производили в родильном зале, забор венозной крови при поступлении в отделение на 5-6 сутки жизни. После центрифугирования крови в течение 15 мин сыворотку немедленно замораживали и хранили при температуре -20°C до проведения процедуры детекции. Принцип работы набора «ИФА-4IL» основан на «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта использованы два моноклональных антитела с различной эпитопной специфичностью к ИЛ-4. Одно из них иммобилизовано на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок), второе конъюгировано с пероксидазой. На первой стадии анализа ИЛ-4, содержащийся в калибровочных и исследуемых пробах, связывается с антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. На второй стадии анализа, иммобилизованный ИЛ-4 взаимодействует с конъюгатом вторых антител – пероксидазой. Количество связавшегося конъюгата прямо пропорционально количеству ИЛ-4 в исследуемом образце. Во время инкубации с субстратной смесью происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся меченых антител. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочной кривой рассчитывается концентрация ИЛ-4 в определяемых образцах.

Принцип работы тест-системы для определения цитокинов (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск) основан на методе твердофазного иммунного иммуноферментного анализа с использованием пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. После завершения этих этапов работы, а 10-15 минут до окончания инкубации готовится раствор субстрат-хромогенной смеси. В последующем ячейки планшеты трижды промываются внесением 300 мкл промывочного раствора в каждую из них и 3-5 раз дистиллированной водой, затем встряхиванием и удалением её над раковиной. Во все лунки добавляют 200 мкл раствора субстрат-хромогенной смеси.

Таблица 2.2.

Количество проведенных иммунологических исследований у обследованных новорожденных детей

Показатели	Контрольная группа (n=30)	Новорожденные с ГИЭ			
		1-степени (n=25)	2-степени (n=27)	3-степени (n=23)	Всего
Пуповинная кровь					
ИЛ-1 β , пг/мл	30	25	27	23	105
TNF- α , пг/мл	30	25	27	23	105
ИЛ10, пг/мл	30	25	27	23	105
Венозная кровь на 5-6 день жизни					
ИЛ-1 β , пг/мл	30	25	27	23	105
TNF- α , пг/мл	30	25	27	23	105
ИЛ10, пг/мл	30	25	27	23	105
Всего	180	150	162	138	630

В течении 20 минут инкубируют при комнатной температуре в темноте. Реакцию останавливают с добавлением 50 мкл раствора 1N серной кислоты.

Учет результатов, предопределяющих активность связанной пероксидазы, проводят с использованием автоматического фотометра для микропланшетов при длине волны 492 нм. Затем устанавливая нулевое поглощение по лункам со стандартом без определяемого цитокина в растворе. Общее количество проведенных иммунологических исследований среди обследованных новорожденных детей составило 630 (табл. 2.2.).

§2.2.3 Молекулярно -генетические методы исследования. Метод выделения ДНК из клинического материала для последующего анализа методом ПЦР

Молекулярно-генетические исследования проводились в Институте иммунологии и геномики человека АН РУЗ в лаборатории в отделе клеточной терапии (с.н.с. д.м.н. Рузибакиева М.Р.). Материалом для выделения ДНК служила венозная кровь из локтевой вены объемом 3 мл (для забора крови использовались вакуайнеры Beckton-Dickinson) с антикоагулянтом/консервантом 15% трикалиевым EDTA (Ethilendianin-tetraaceticacid). Кровь для дальнейшей обработки могла сохраняться до 24 часов при температуре не выше +4°C.

Для получения геномной ДНК использовали двухэтапный метод лизиса клеток крови. Путем двойного центрифугирования всего объема цельной крови в буфере RCLB (Redcellslsisbuffer– эритроцитарный лизирующий буфер) при скорости 1500 об/мин в течение 15-20 минут осуществлялось лизирование эритроцитов. Использование RCLB вызывает осмотический шок эритроцитов, приводящий к их набуханию и дальнейшему разрушению. Супернатант, содержащий разрушенные эритроциты, осторожно сливался из пробирки, остаток надосадочной части отсасывался. Оставшийся на дне сгусток лейкоцитарной смеси лизировался в лейкоцитарном лизирующем буфере WCLB (Whitecellslsisbuffer, лизирующий буфер белых клеток крови)

в количестве, зависящем от объема лейкоцитарной смеси. WCLB одновременно является консервантом для хранения лизатов лейкоцитарной массы даже при комнатной температуре. В таком состоянии лизаты могли храниться неопределенно долгое время.

Прописи лизирующих буферов:

RCLB	WCLB
1 mM NH ₄ HCO ₃	100mM Tris-Cl (pH 7,6)
115 mM NH ₄ Cl	40 mM EDTA (pH 8,0)
Автоклавировать 50 mM NaCl	0,05% Sodiumacide
	После автоклавирования
	0,2% SDS

Дальнейшая очистка лизатов лейкоцитарной массы основана на методе спиртово-солевой обработки по S. Miller и соавт. (1988) в модификации, предложенной лабораторией Стенфордского Университета.

К 400 мкл лизата лейкоцитарной массы добавляют 150 мкл 5M NaCl, перемешивают на шейкере и помещают в лед на 10-20 минут, затем центрифугируют при 1200 об/мин в течение 15 минут. Супернатант забирают в другую пробирку типа Эппендорф и добавляют 100% ледяной этанол. При осторожном встряхивании в смеси появляется четвертичная цепь молекулы ДНК; смесь центрифугируют при 1200 об/мин в течение 15 минут; супернатант удаляют, а оставшееся на дне пробирки белесоватое пятно отмывают еще раз в 80% этаноле при 1200 об/мин в течение 10 минут. Супернатант сливают, осторожно удаляют остатки спирта, пробирку оставляют открытой до полного испарения спирта (на 12 часов при комнатной температуре либо в термостате при температуре 40-45°C на 2 часа).

После испарения спирта в пробирку с высушенной ДНК добавляют разбавленный дистиллированной водой раствор TE (Tris-EDTA) в соотношении 1:3 (TE: вода) pH 8,0.

Идентификацию продуктов амплификации проводили в ультрафиолетовом свете (310 нм) после электрофореза в

течение 15 минут в 3% агарозном геле при напряжении 150. В (в обоих случаях пробег составлял 3-4 см) и окрашивания бромистым этидием. Методики выполняли согласно стандартным протоколам.

Таблица 2.3.

Количество проведенных генетических исследований у обследованных новорожденных детей

Показатель	Контроль ная группа (n=66)	Новорождённые дети с ГИЭ		
		1- 1 степень (n=31)	2 степен ь (n=37)	3 степень (n=44)
ИЛ-1 β 511Т/С	66	31	37	44
TNF- α 308G/A	95	31	37	44
ИЛ-10 1082G/A	66	31	37	44

Генотипирование полиморфных участков генов иммунного ответа проведено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с аллель-специфичными праймерами (НПФ «Литех», Москва) и электрофоретической детекцией продуктов реакции в агарозном геле. Протестировано 3 ОНП : ИЛ-1 β (Т-511С); ИЛ-10(G-1082А), TNF- α (G-308А), все указанные SNP являются ранее подтвержденными и имеют частоту минорного аллеля 1% и более (NCBI db SNP data base, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/index.html>).

Распределение генотипов в исследуемых полиморфных локусах было изучено с использованием логистического регрессионного анализа и с проверкой на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью точного теста Фишера. Учитывали соответствие больных и лиц контрольной группы по полу и возрасту.

Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. (табл. 2.3.). Общее количество проведенных генетических исследований в данной работе составило –112

§2.2.4. Инструментальные методы исследования

Нейросонография (НСГ) проводилась в 5-й городской детской больнице при консультировании врачом Салиховой З.Х. Исследования выполнялись в режиме реального времени методом чрезрорничкового ультразвукового сканирования головного мозга по стандартным сечениям во фронтальной и сагиттальной плоскостях на аппарате SONOSCOPESSI – 6000 с использованием конвексного датчика 5-7 МГц, линейного датчика 5-10 МГц и секторного датчика 3-5 МГц.

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости и рентгенография проводились по показаниям

§2.2.5. Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи пакетов программ Microsoft Excel 2010, Statistica 6.1. с использованием статистических функций, критерия Стьюдента (t), с вычислением вероятности ошибки (P). Для оценки относительного риска развития патологии использовали отношение шансов (ОШ) с расчетом доверительного интервала (ДИ 95%), критерия χ^2 . Корреляционный анализ с расчетом коэффициента корреляции (r) и его достоверности проводился по методу Пирсона. Статистически значимые различия рассматривались при значениях уровня $p < 0,05$.

Статистическая обработка генетического материала

Для оценки полученных результатов и проведения статистической обработки данных в данной работе использовался пакет программ Microsoft Excel, SISA9.17® и в статистическом программном пакете *SISA, Arlequin 3.5.2.* и ряд формул, приведенных ниже.

Общепринятыми в медико-генетической статистике являются следующие показатели:

1. Расчет генной частоты встречаемости отдельных специфичностей HLA у здоровых и больных проводится по формуле соотношения числа, определенного аллеля к удвоенному общему числу индивидуумов в выборке:

$$GF = \frac{a}{2 \cdot n}$$

где: а – число аллелей в исследовании, n – число лиц, в фенотипе которых присутствует вариант гена.

2. Частота гена определяется с учетом закона Харди-Вайнберга для дуаллельной системы по формуле: $P=1-\sqrt{1-A}$

Где: P- частота гена, A- частота соответствующего антигена (фенотип)

3. В качестве количественной меры эффекта при сравнении относительных показателей нами использовался показатель отношения шансов (ОШ), определяемый как отношение вероятности наступления события в группе, подвергнутой воздействию фактора риска, к вероятности наступления события в контрольной группе. Показатель отношения шансов рассчитывался исходя из полученных таблиц сопряженности по формуле:

$$OR = \frac{A \cdot D}{B \cdot C}$$

4. Достоверность (p) сравниваемых величин. Определяется по таблице факториалов с использованием критерия χ^2 , вычисляемого по формуле Holdene: $\chi^2 = W y^2 c$ учетом одной степени свободы – $df=1$, где:

$$W = \frac{y}{v}, V = \frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d} \text{ и } y = 1nRR$$

После преобразования конечная формула приобретает следующий вид:

$$\chi^2 = \frac{\left[\frac{((a+0.5)x(d+0.5)^2)}{(b+0.5)x(c+0.5)} \right]}{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}$$

Если хотя бы одна из величин a,b,c,d равна 1, то достоверность различий в частоте встречаемости генов и гаплотипов рассчитывается с помощью χ^2 с поправкой на Йейтса на непрерывность выборки:

$$\chi^2 = \frac{(axb + bxc)^2 \cdot xN}{(a+b)x(c+d)x(a+c)x(b+d)}$$

Значение χ^2 , превышающее 3,841 (что соответствует $p < 0,05$), рассматривается как показатель достоверной разницы между частотными характеристиками в сравниваемых группах.

5. Для повышения точности исследования и для того, чтобы избежать ошибочного заключения о наличии ассоциации, проводится коррекция значения «р» по способу Бонферрони $P_c = 1 - (1 - p)^n$

где: р - найденное значение р,

n - число генов, P_c - корригированное значение р.

6. С целью проецирования полученных значений ОШ на генеральную совокупность нами рассчитывались границы 95% доверительного интервала (95% ДИ) по следующим формулам:

$$\text{Нижняя граница 95\% ДИ} = e^{\ln(OR) - 1,96 \cdot \sqrt{\frac{1}{A} + \frac{1}{B} + \frac{1}{C} + \frac{1}{D}}}$$

$$\text{Верхняя граница 95\% ДИ} = e^{\ln(OR) + 1,96 \cdot \sqrt{\frac{1}{A} + \frac{1}{B} + \frac{1}{C} + \frac{1}{D}}}$$

Исходя из полученных данных, значимость взаимосвязи исхода и фактора считалась доказанной в случае нахождения доверительного интервала за пределами границы отсутствия эффекта, принимаемой за 1.

ГЛАВА III. ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ РИСКА И ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ГИЭ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

§ 3.1. Значимость перинатальных факторов риска в формировании гипоксически-ишемической энцефалопатии различной степени тяжести у недоношенных детей

Проблема перинатальных повреждения головного мозга новорожденного ребенка является весьма актуальной в связи с высокой частотой встречаемости в структуре неврологической заболеваемости, вероятностью отдаленных неблагоприятных исходов и инвалидизации [60]. Следует отметить, что среди причин инвалидности новорожденных детей, заболевания центральной нервной системы занимают первое место, при этом перинатальные поражения головного мозга составляют 60-80% от всех неврологических заболеваний у детей [4,7,12]. Среди перинатальных поражений центральной нервной системы гипоксически-ишемические состояния занимают 47% случаев [10,12,15]. По некоторым данным, частота тяжелой ГИЭ у новорожденных детей составляет от 0,35 до 3 на 1000 родившихся живыми [60, 64].

К развитию гипоксически-ишемической энцефалопатии могут привести патологическое течение беременности и родов, рождение новорожденного ребенка в асфиксии, а также целый ряд неблагоприятных факторов риска [96, 143, 144]. Центральная нервная система является наиболее уязвимой при воздействии острой и хронической гипоксии, что во многом определяет адаптационные возможности новорожденного ребенка и создает предпосылки для высокой заболеваемости новорожденных детей. Своевременное выявление последних позволит проводить оказание качественной медицинской помощи женщинам в период беременности и родов, а также

новорожденным детям.

На первом этапе нашего исследования нами было проведено клинико-анамнестическое исследование с целью изучения влияния перинатальных факторов риска на формирование у новорожденных гипоксически-ишемической энцефалопатии различной степени тяжести.

Обследовано 144 новорожденных ребенка и их матери, из них 110 недоношенных детей было с гипоксически-ишемической энцефалопатией: 1-ю группу составили 39 детей с ГИЭ 1 степени, 2-ю группу – 36 детей с ГИЭ 2 степени и 3-ю группу -35 детей с ГИЭ 3 степени. В контрольную группу были включены 34 женщины и их доношенные новорожденные, не имевшие перинатальных повреждений ЦНС и родовой травмы.

При анализе возрастного состава наблюдавшихся матерей, было установлено, что средний возраст женщин в 1-й группе составил $25,6 \pm 0,7$ лет, во 2-й $29,6 \pm 0,8$ лет, в 3-й – $32,3 \pm 1,2$ год, в контрольной группе - $20,1 \pm 0,3$ лет. В структуре заболеваемости матерей было выявлено, что хроническими соматическими заболеваниями в 1-й группе страдали $18,0 \pm 6,1\%$ женщин, во 2-й группе $39,3 \pm 8,1\%$, в 3-й группе – $51,4 \pm 8,4\%$. Среди заболеваний матерей наблюдавшихся новорожденных с ГИЭ больше всего преобладала анемия, соответственно в 1-й, 2-й, 3-й группе: $59,0 \pm 7,8\%$, $89,6 \pm 5,07\%$, $97,1 \pm 2,8\%$, в контрольной группе – $47,0 \pm 1,5\%$. Гинекологические заболевания также с большей частотой встречались у матерей в 3-й группе - $31,4 \pm 7,8\%$, во 2-й группе они отмечались у $22,2 \pm 6,9\%$, в 1-й – у $8 \pm 4,3\%$ женщин, в контрольной – у $3,0 \pm 2,9\%$.

Нами было выявлено, что матери наблюдаемых детей имели TORCH-инфекции, причем количество их во 2-й группе было в 3 раза больше $33,3 \pm 7,9\%$, чем в 1-й группе – $10,3 \pm 4,9\%$, а в 3-й группе – в 5 раз больше – $51,4 \pm 8,4\%$. Более половины женщин всех групп во время беременности переболели ОРВИ, соответственно в 1-й – $64,1 \pm 7,7\%$, во 2-й – $75,0 \pm 7,2\%$, в 3-й – $71,4 \pm 7,6\%$. Учитывая тот факт, что наши исследования

совпали с периодом пандемии, нами также была проанализирована частота заболеваний COVID-19 у матерей во время беременности. Оказалось, что наибольшее число матерей, перенесших данное заболевание, было больше всего в 3-й группе $45,7 \pm 5,9\%$, то есть у женщин, у которых, новорожденные дети страдали ГИЭ 3-й степени. Во 2-й группе также значительная часть женщин перенесли COVID-19 – $39,3 \pm 8,1\%$, а в 1-й группе – $15,0 \pm 5,7\%$. В контрольной группе таких случаев не наблюдалось (Рис.3.1.).

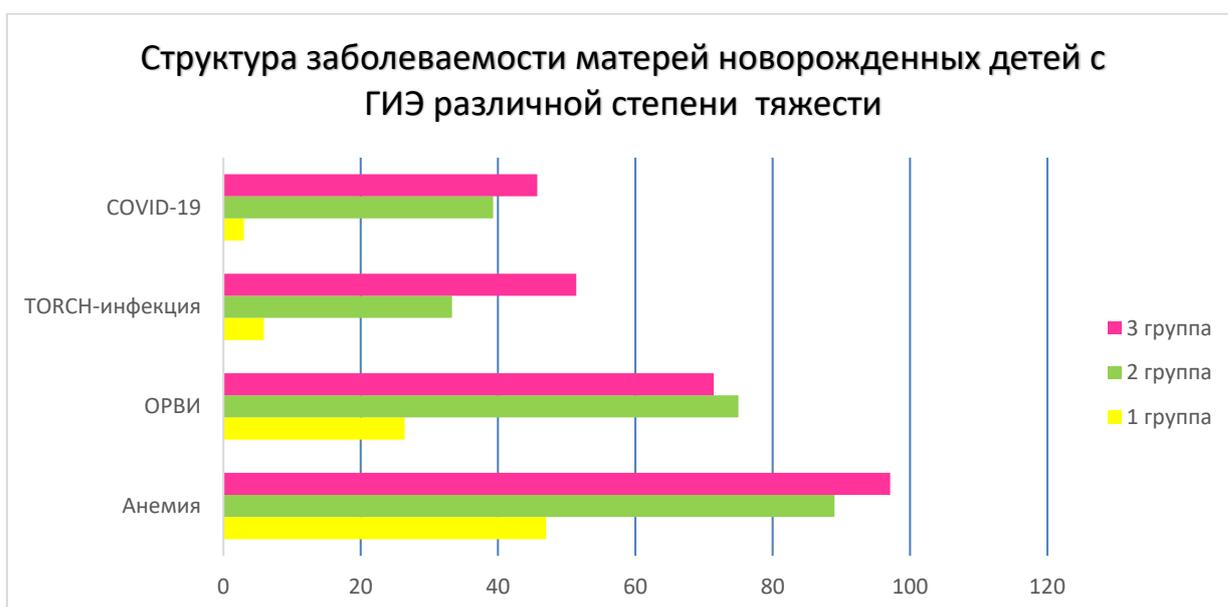


Рис.3.1. Структура заболеваемости матерей новорожденных детей с ГИЭ различной степени тяжести.

Отягощенный акушерский анамнез (самопроизвольные выкидыши, медицинские аборт, мертворождения, неразвивающаяся беременность) выявлялись в 1-й группе у $25,6 \pm 6,7\%$, во 2-й – у $50,0 \pm 8,3\%$, в 3-й – у $54,3 \pm 8,4\%$ матерей, а в контрольной группе – у $8,9 \pm 4,9\%$.

Проведен анализ течения беременности у матерей наблюдавшихся новорожденных. У матерей детей контрольной группы течение беременности и родов в подавляющем большинстве проходило физиологически и без осложнений матери всех новорожденных детей, у которых

развилась гипоксически-ишемическая энцефалопатия, имели осложненное течение беременности и родов. Все изученные факторы риска, способствовали развитию у ребенка хронической внутриутробной гипоксии плода, либо асфиксии в родах (Рис.3.2.). Так, эклампсия в группе матерей новорожденных с ГИЭ 3-й степени выявлялась у подавляющего большинства женщин – $88,6 \pm 5,3\%$, во 2-й группе – у $77,0 \pm 8,4\%$, в 1-й группе – у $59,0 \pm 7,9\%$. Угроза прерывания беременности также наиболее часто встречалась в 3-й группе – $91,4 \pm 4,7\%$, во 2-й – у $75,0 \pm 7,2\%$, в 1-й – у $56,4 \pm 7,9\%$ женщин. Фето-плацентарная недостаточность также больше всего была выявлена у матерей детей 3-й группы – $88,6 \pm 8,4\%$, во 2-й – в $75,0 \pm 7,2\%$, в 1-й – в $54,0 \pm 8,0\%$ случаев.

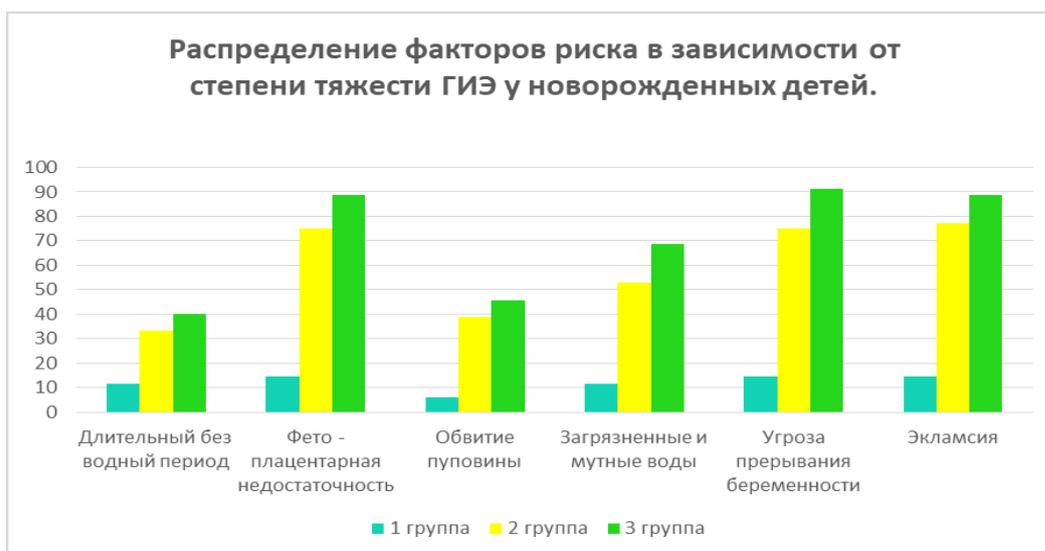


Рис.3.2. Распределение факторов риска в зависимости от степени тяжести ГИЭ у новорожденных детей.

Длительный безводный период отмечался в 1-й группе в $18,0 \pm 6,1\%$, во 2-й группе – в $33,3 \pm 7,8\%$, в 3-й группе – в $40,0 \pm 8,2\%$ случаев. Существенное значение на развитие гипоксии в интранатальном периоде имеет преждевременная отслойка плаценты. Более, чем у 1/3 матерей 3-й группы – $37,1 \pm 5,7\%$ была выявлена преждевременная отслойка

плаценты, во 2-й группе – у $30,6 \pm 7,7\%$, в 1-й – у $13,0 \pm 5,4\%$. Загрязненные околоплодные воды в 3-й группе отмечались в 2,5 раза чаще ($68,6 \pm 7,8\%$), чем у матерей 1-й группы ($28,0 \pm 7,2\%$). У матерей детей 2-й группы загрязненные околоплодные воды отмечались более, чем у половины женщин ($52,8 \pm 8,3\%$). Обвитие пуповины в 3-й группе встречалось с наибольшей частотой и составило $45,7 \pm 8,4\%$, во 2-й группе – $38,9 \pm 8,1$, в 1-й группе – $21,0 \pm 6,5$ %.

Таблица 3.1.

Значимость факторов риска в формировании у новорожденных ГИЭ 1 степени тяжести

Факторы риска	1 группа	Контрольная группа	χ^2	ОШ	95% ДИ	P
Эклампсия	23	5	15,0	8,3	3,0 ; 26,1	<0,001
Угроза прерывания беременности	22	5	13,6	8,0	2,3 ; 24,0	<0,001
ФПН	21	5	12,1	7,0	2,2 ; 21,1	<0,001
Преждевременная отслойка плаценты	5	1	2,4	5,0	0,5 ; 44,0	
Преждевременный разрыв о/п оболочки	13	3	6,4	5,2	1,3 ; 20,1	<0,01
Длительный безводный период	7	4	0,5	2,0	0,4 ; 6,2	
Загрязненные воды	11	4	3,0	3,0	1,0 ; 53,0	<0,01
Маловодие	12	3	5,3	5,0	1,2 ; 18,0	<0,01
Многоводие	9	4	1,6	2,3	0,6 ; 8,1	
Обвитие пуповины	8	2	3,3	4,1	1,0 ; 10,3	<0,01
Стремительные роды	10	5	1,3	2	1,0 ; 21,0	
Кесарево сечение	10	5	1,3	2	1,0 ; 7,0	
Анемия	23	16	1,0	2,0	2,4 ; 24,0	
ОРВИ	25	9	10,3	5,0	1,0 ; 4,1	<0,001
TORCH-инфекции	4	5	0,5	2,0	2,0 ; 14,0	
COVID-19	6	1	3,2	6,0	0,3 ; 11,0	<0,01
Экстрагенитальные заболевания	7	4	0,5	2,0	0,4 ; 6,2	
Гинекологические заболевания	3	1	0,8	3,0	0,3 ; 28,0	

Таким образом, становится очевидным, что с повышением частоты заболеваемости матерей, осложненного течения беременности и родов, соответственно увеличивается риск развития у новорожденных гипоксически-ишемической энцефалопатии 2-й и 3-й степени тяжести. В этой связи, чрезвычайно важным является исследование факторов риска с целью возможного прогнозирования степени ГИЭ.

Нами был проведен анализ эффекта воздействия отдельных факторов риска на развитие ГИЭ различной степени тяжести, что оценивалось по величине отношения шансов и позволило выявить связь между конкретным фактором риска и развитием ГИЭ определенной степени тяжести (табл.3.1;3.2; 3.3.).

Также оценивалась статистическая значимость отношения шансов, исходя из значений 95% доверительного интервала. Среди проанализированных 18 факторов риска, способствовавших развитию ГИЭ 1 степени, 9 факторов были статистически значимыми, достоверными.

Анализ полученных данных показал, что среди осложнений беременности и родов наибольшее значение имели такие факторы риска, как эклампсия (ОШ=8,3; 95% ДИ 3,0; 26,1; $P<0,001$), угроза прерывания беременности (ОШ=8,0; 95% ДИ 2,3; 24,0; $P<0,001$), фетоплацентарная недостаточность (ОШ=7,0; 95% ДИ 2,2; 21,1; $P<0,001$), маловодие (ОШ=5,0; 95% ДИ 1,2; 18,0; $P<0,01$). Среди проанализированных заболеваний матери наибольшее значение для развития ГИЭ 1 степени имели ОРВИ (ОШ=5,0; 95% ДИ 1,0; 4,1; $P<0,001$). Проведенный анализ факторов риска для формирования ГИЭ 2 степени тяжести выявил, что все проанализированные 18 факторов риска были достоверными, причем 12 из них имели высокую степень достоверности ($P<0,001$). Наибольший риск среди осложнений беременности и родов оказывали такие факторы, как эклампсия, которая увеличивала шанс развития ГИЭ 2 степени сразу в 20,3 раза (ОШ=20,3; 95% ДИ 5,9; 69,6; $P<0,001$),

угроза прерывания беременности и фетоплацентарная недостаточность в 17,4 раза (ОШ=17,1; 95% ДИ 5,2; 58,4; P<0,001), преждевременная отслойка плаценты в 14,5 (ОШ=14,5; 95% ДИ 1,8; 12,0; P<0,001), обвитие пуповины в 10,2 раза (ОШ=10,2; 95% ДИ 2,1; 49,3; P<0,001).

Таблица 3. 2.

Значимость факторов риска в формировании у новорожденных ГИЭ 2 степени тяжести

Факторы риска	2 группа	Контрольная группа	χ^2	ОШ	95% ДИ	P
Эклампсия	28	5	27,9	20,3	5,9 ; 69,6	<0,001
Угроза прерывания беременности	27	5	25,6	17,4	5,2 ; 58,4	<0,001
ФПН	27	5	25,6	17,4	5,2 ; 58,4	<0,001
Преждевременная отслойка плаценты	11	1	9,4	14,5	1,8 ; 12,0	<0,001
Преждевременный разрыв о/п оболочки	12	3	6,2	5,2	1,3 ; 20,4	<0,01
Длительный безводный период	12	4	4,6	3,8	1,1 ; 13,1	<0,01
Загрязненные воды	19	4	13,3	8,4	2,4; 28,7	<0,001
Маловодие	14	3	8,6	6,6	1,7; 25,7	<0,001
Многоводие	10	4	2,9	2,9	0,8 ; 10,3	<0,05
Обвитие пуповины	14	2	10,8	10,2	2,1; 49,3	<0,001
Стремительные роды	16	5	7,3	4,6	1,5 ; 14,7	<0,001
Кесарево сечение	17	5	8,6	5,2	1,6; 16,4	<0,001
Анемия	32	16	4,1	9,0	2,6; 3,1	<0,001
ОРВИ	27	9	17,2	8,3	2,8; 24,3	<0,001
TORCH-инфекции	12	2	8,2	8,3	1,7;40,9	<0,001
COVID-19	13	1	2,0	18,6	2,3;152,7	<0,001
Экстрагенитальные заболевания	13	4	5,6	4,2	1,2 ; 14,7	<0,01
Гинекологические заболевания	8	1	5,8	9,4	8,1 ; 80,1	<0,01

Среди перенесенных заболеваний матери наиболее высокими были риски при анемии, которая увеличивала шанс развития ГИЭ 2 степени в 9,0 раза (ОШ=9,0; 95% ДИ 2,6; 3,1; $P<0,001$), ОРВИ (ОШ=8,3; 95% ДИ 2,8; 24,3; $P<0,001$), TORCH-инфекции (ОШ=8,3; 95% ДИ 1,7; 40,9; $P<0,001$) COVID-19, после которого шанс риска увеличивался в 18,6 раза (ОШ=18,6; 95% ДИ 2,3; 152,7; $P<0,001$).

Далее нами был проведен анализ факторов риска в развитии ГИЭ 3 степени. При анализе факторов риска оказалось, что из 18 факторов 16 имели высокую степень достоверности. Полученные данные показали, что среди факторов, оказывающих наибольший риск развития у новорожденных ГИЭ 3 степени, были угроза прерывания беременности, которая увеличивала шанс в 61,9 раза (ОШ=61,9; 95% ДИ 13,5; 28,2; $P<0,001$), эклампсия и ФПН (ОШ=44,9; 95% ДИ 10,9; 183,9; $P<0,001$), преждевременная отслойка плаценты (ОШ=19,5; 95% ДИ 2,3; 159,9; $P<0,001$), загрязненные и мутные околоплодные воды (ОШ=16,3; 95% ДИ 4,6; 57,7; $P<0,001$), маловодие в 15,5 раз (ОШ=15,5; 95% ДИ 3,9; 60,7; $P<0,001$) и обвитие пуповины (ОШ=13,5; 95% ДИ 2,7; 65,1; $P<0,001$).

Среди перенесенных заболеваний матери наибольшие риски на развитие у новорожденных ГИЭ 3 степени оказывали анемия, которая увеличивала шанс в 38,2 раз (ОШ=38,2; 95% ДИ 4,7; 312,0; $P<0,001$), COVID-19 в 27,8 раз (ОШ=13,9; 95% ДИ 3,4; 216,4; $P<0,001$).

Наличие TORCH-инфекций у матери увеличивало шанс развития ГИЭ 3 степени в 16,9 раз (ОШ=16,9; 95% ДИ 3,5; 81,8; $P<0,001$), гинекологические заболевания в 15,1 раза (ОШ=15,1; 95% ДИ 1,8; 125,2; $P<0,001$). Вместе с тем, нами было выявлено, что практически у всех женщин имело место одновременное сочетание сразу нескольких факторов риска, более выраженное во 2-й и 3-й группе.

Таблица 3.3.

**Значимость факторов риска в формировании у
новорожденных ГИЭ 3 степени тяжести**

Факторы риска	3 группа	Контр ольная группа	χ^2	ОШ	95% ДИ	P
Эклампсия	31	5	40,7	44,9	10,9;183,9	< 0,001
Угроза прерывания беременности	31	5	40,8	61,9	13,5 ; 28,2	< 0,001
ФПН	31	5	37,7	44,9	10,9;183,9	< 0,001
Преждевременная отслойка плаценты	13	1	12,4	19,5	2,3 ; 159,9	< 0,001
Преждевременный разрыв о/п оболочки	14	3	9,0	6,9	1,8 ; 26,9	< 0,001
Длительный безводный период	14	4	1,7	5	1,4 ; 17,3	< 0,001
Загрязненные воды	24	4	23	16,3	4,6 ; 57,9	< 0,001
Маловодие	21	3	19	15,5	3,9 ; 60,7	< 0,001
Многоводие	13	4	4,9	3,9	1,1 ; 13,7	< 0,01
Обвитие пуповины	16	2	14,1	13,5	2,7 ; 65,1	< 0,001
Стремительные роды	12	5	3,5	3	0,9 ; 9,8	< 0,05
Кесарево сечение	18	5	10,4	6,1	1,9 ; 19,5	< 0,001
Анемия	34	16	27,1	38,2	4,7 ; 312	< 0,001
ОРВИ	25	9	13,9	6,9	2,4 ; 19,9	< 0,001
TORCH-инфекции	18	2	17,4	16,9	3,5 ; 81,8	< 0,001
COVID-19	16	1	16,9	27,8	3,4 ; 216,4	< 0,001
Экстрагенитальные заболевания	18	4	12,49	7,9	23 ; 27,3	< 0,001
Гинекологические заболевания	11	1	9,7	15,1	1,8 ; 125,2	< 0,001

Таким образом, полученные данные показывают, что в развитии ГИЭ 1 степени наибольшим риском явились такие факторы, как маловодие, преждевременный разрыв плодных оболочек, эклампсия, а среди проанализированных заболеваний – анемия и COVID-19. В развитии ГИЭ 2 степени

наибольшим шансом обладали такие факторы, как эклампсия, угроза прерывания беременности, нарушение маточно-плацентарного кровотока, обвитие пуповины, среди заболеваний наибольшим риском обладали анемия, COVID-19, ОРВИ. В развитии ГИЭ 3 степени самыми высокими рисками было наличие угрозы прерывания беременности, эклампсия, нарушение маточно-плацентарного кровотока, обвитие пуповины, загрязненные околоплодные воды, а среди заболеваний, анемия, COVID-19, TORCH-инфекции.

Однако, очевидно, что все эти факторы взаимосвязаны и зачастую, один вытекает из другого. При этом также следует учесть, что чаще всего, у наблюдавшихся матерей, имело место наличие не одного, а одновременное сочетание сразу нескольких факторов риска, с увеличением частоты, которых и их сочетаний резко возрастал риск развития у новорожденных детей гипоксически-ишемической энцефалопатии средне-тяжелой и тяжелой степени тяжести. Изученные нами неблагоприятные перинатальные факторы и выявленные риски развития ГИЭ различной степени тяжести в значительной мере могут способствовать прогнозированию и целенаправленному усовершенствованию комплекса лечебно-профилактических мероприятий в практическом здравоохранении.

§ 3.2. Особенности клинического течения гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей в зависимости от степени тяжести

Гипоксически-ишемическая энцефалопатия является одной из основных причин смертности в перинатальном периоде и развития неврологических нарушений у новорожденных детей. При неврологическом осмотре новорожденных детей было выявлено, почти у половины детей с тяжелой степенью ГИЭ реакция на осмотр была вялая, что было достоверно выше ($P < 0,001$), чем у детей со средне-тяжелой и легкой степенью тяжести (табл.3.1.). У детей со

средне тяжелой степенью ГИЭ вялая реакция на осмотр встречалась менее, чем у половины детей, но также была достоверно выше, чем у детей с легкой степенью тяжести ($P < 0,001$), где данный признак отмечался почти у трети детей. Такие признаки, как вздрагивания и плач также с наибольшей достоверностью ($P < 0,001$), чаще встречались у новорожденных детей с тяжелой степенью. Характерно было, что у детей с легкой степенью ГИЭ у половины новорожденных реакция на осмотр была адекватная $51,2 \pm 1,3\%$, что было достоверно выше, чем при средне тяжелой степени ($P < 0,001$). При тяжелой степени тяжести ГИЭ детей с адекватной реакцией на осмотр не было.

Одним из важных признаков, определяющих состояние ребенка, является характер крика. Наши исследования показали, что при тяжелой степени ГИЭ более, чем у трети детей ($37,1 \pm 8,2\%$) наблюдается монотонный крик. Этот признак выявлялся только у детей с тяжелой степенью ГИЭ. При тяжелой степени также у детей в $14,3 \pm 5,9\%$ случаев отмечался мозговой крик, что было в 5,1 раза больше, чем при среднетяжелой степени. При тяжелой степени более чем у трети детей ($37,1 \pm 8,2\%$) также определялся слабый крик и менее всего у них выявлялся громкий крик ($11,4 \pm 5,4\%$), что было достоверно меньше, чем у детей с легкой и среднетяжелой степенью.

При легкой степени тяжести примерно с одинаковой частотой у новорожденных с ГИЭ выявлялся громкий ($51,2 \pm 7,9\%$) и слабый крик ($48,7 \pm 8,0\%$). У детей со среднетяжелой степенью ГИЭ более чем у $2/3$ новорожденных выявлялся слабый крик ($63,9 \pm 8,0\%$), а у трети ($33,3 \pm 7,9\%$) отмечался громкий крик и лишь у $2,8 \pm 2,7\%$ был выявлен мозговой крик. Важное значение при определении неврологического статуса имеет исследование состояния большого родничка. При тяжелой степени ГИЭ более половины детей ($57,1 \pm 8,4\%$) имели напряжение большого родничка. В $28,6 \pm 7,6\%$ случаев у них определялось выбухание большого родничка $14,3 \pm 1,0\%$, а у $14,3 \pm 5,9\%$ новорожденных – пульсация большого родничка,

что встречалось достоверно чаще, чем у детей со среднетяжелой степенью.

Таблица 3.4.

Клинические проявления гипоксически – ишемической энцефалопатии у новорожденных детей в зависимости от степени тяжести

Клинические признаки	1 группа n –39, абс/%		2 группа n –36, абс/%		3 группа n –35, абс/%	
Реакция на осмотр:						
вялая	11	28,2±7,2	16	44,4±6,1**	17	48,6±6,3** ^^
вздрагивания	5	12,8±5,3	8	22,2±6,9**	11	31,4±7,8** ^^
плач	3	7,7±4,3	5	13,9±5,8**	7	20,0±6,8** ^^
адекватная	20	51,2±8,0**	7	19,4±6,9	-	-
Крик:						
МОНОТОННЫЙ	-	-	-	-	13	37,1±8,2
МОЗГОВОЙ	-	-	1	2,8±2,7	5	14,3±5,9^^
громкий	20	51,2±8,0**	12	33,3±7,9** ^^	4	11,4±5,4
слабый	19	48,7±8,0**	23	63,9±8,0**^^	13	37,1±8,2
Большой родничок:						
напряжен	1	2,6±2,5	11	30,6±7,7**	20	57,1±8,4***^
выбухает	-	-	2	5,6±3,8	10	28,6±7,6^^
пульсирует	-	-	1	2,8±2,7	5	14,3±5,9^^
Позы новорожденного:						
поза эмбриона	27	69,2±7,4**	19	52,8±8,3^^	1	2,9±2,8
головка слегка запрокинута	1	2,6±2,5	4	11,1±5,2**	14	40,0±8,2** ^^
поза лягушки	11	28,2±7,2	13	36,1±8,0**	15	42,9±8,4** ^^
опистотонус	-	-	-	-	4	11,4±5,4
Осмотр глаз (сочетанные синдромы):						
нистагм	3	7,7±4,3	9	25,0±7,2**	18	51,4±8,4** ^^
плавающий взгляд	5	12,8±5,3	7	19,4±6,6**	10	28,6±7,6** ^^

симптом «заходящего солнца»	-	-	1	2,8±2,7	7	20,0±6,8 ^{^^}
кровоизлияние в склеру	-	-	3	8,3±4,6	9	25,7±7,4 ^{^^}
глаза приоткрывает, взор фиксирует	37	94,9±3,5 ^{**}	30	83,3±6,2 ^{^^}	13	37,1±8,2
глаза приоткрывает, взор не фиксирует	1	2,6±2,5	3	8,3±4,6 ^{**}	4	11,4±5,4 ^{**} ^
глазки не открывает	-	-	1	2,8±2,7	10	28,6±7,6 ^{^^}
глазки открывает редко	1	2,6±2,5	2	5,6±3,8 ^{**}	8	22,9±7,1 ^{**} ^^
Мышечный тонус:						
гипотония	14	35,9±7,7	13	36,1±8,0	17	48,6±8,4 ^{**} ^^
гипертонус	5	12,8±5,3	8	22,2±6,9 ^{**}	8	22,9±7,1 ^{**}
дистония	6	15,4±5,8	8	22,2±6,9 ^{**}	10	28,6±7,6 ^{**} ^
Сухожильные рефлексы:						
оживлены	5	12,8±5,3 [*]	5	13,9±5,8 [^]	2	5,7±3,9
снижены	14	35,9±7,7	18	50,0±8,3 ^{**}	23	65,7±7,1 ^{**} ^^
не вызываются	-	-	1	2,8±2,7	8	22,9±7,1 ^{^^}
Физиологические рефлексы:						
вызываются	19	48,7±8,0 ^{**}	14	38,9±8,1 ^{^^}	3	8,6±4,7
вялые	14	35,9±7,7 ^{**}	11	30,6±7,7 [*] ^^	7	20,0±6,8
быстро угасают	6	15,4±5,8	9	25,0±7,2 ^{**}	11	31,4±7,8 ^{**} ^
отсутствуют	-	-	2	5,6±3,8	14	40,0±8,3 ^{^^}
Судороги	1	2,6±2,5	2	5,6±3,8 ^{**}	9	25,7±7,4 ^{**} ^^
Псевдобульбарные нарушения	-	-	-	-	14	40,0±8,3
Двигательные нарушения	-	-	2	5,6±3,8	12	34,3±8,0 ^{^^}
Уровень сознания:						
гипервозбудимость	5	12,8±5,3	8	22,2±6,9 ^{**}	11	31,4±7,8 ^{**} ^^
летаргия	-	-	-	-	1	2,9±2,8
кома	-	-	-	-	2	5,7±3,9

Примечание: * - достоверность данных между группами по сравнению с 1-ой группой (* - $P < 0,01$; ** - $P < 0,001$); ^ - достоверность данных между 2 группой по сравнению с 3-ей группой (^ - $P < 0,01$; ^^ - $P < 0,001$);

При среднетяжелой степени ГИЭ у трети детей ($30,6 \pm 7,7\%$) определялся напряженный родничок, а выбухание и пульсация родничка были замечены в единичных случаях. У детей с легкой степенью тяжести ГИЭ состояние большого родничка не имело патологических изменений, только лишь у 1 больного было выявлено напряжение большого родничка.

Исследование позы новорожденного показало, что при тяжелой степени в $42,9 \pm 8,4\%$ случаев выявлялась поза лягушки, у $40,0 \pm 8,2\%$ детей отмечалась слегка запрокинутая назад головка, у 4-х детей ($11,4 \pm 5,4\%$) был зафиксирован опистотонус. При легкой и среднетяжелой степени у детей чаще всего была поза эмбриона ($69,2 \pm 7,4\%$ и $52,8 \pm 8,3\%$). Поза лягушки в 1-й группе встречалась почти у трети больных ($28,2 \pm 7,2\%$), но меньше, чем во 2-й группе ($36,1 \pm 8,0\%$). Запрокинутая назад головка у детей 2-й группы отмечалась достоверно чаще, чем у детей 1-й группы, где это был единичный случай.

Исследование глазной симптоматики показало яркую выраженность всех патологических проявлений у детей с тяжелой степенью ГИЭ и значения достоверно более высокие, чем у детей 1-й и 2-й группы. У половины детей 3-й группы ($51,4 \pm 8,4\%$) отмечался нистагм, почти у трети ($28,6 \pm 7,6\%$) – плавающий взгляд, у четверти детей ($20,0 \pm 6,8\%$) выявлялся симптом «заходящего солнца», у 1/5 ($25,7 \pm 7,4\%$) – кровоизлияния в склеру. Также среди этих детей $28,6 \pm 7,6\%$ не открывали глаза, а $22,9 \pm 7,1\%$ детей редко открывали глаза. Среди детей с легкой и средней тяжестью ГИЭ преобладали дети, которые открывали глаза и фиксировали взгляд ($94,9 \pm 3,5\%$ и $83,3 \pm 6,2\%$), при тяжелой степени таких детей

было значительно меньше ($37,1\pm 8,2\%$). Среди патологических проявлений при среднетяжелой степени чаще встречались нистагм - $25,0\pm 7,2\%$ и плавающий взгляд - $19,4\pm 6,6\%$, что было достоверно больше, чем при легкой степени, соответственно - $7,7\pm 4,3\%$ и $12,8\pm 5,3\%$. Остальные признаки встречались в единичных случаях.

Исследование мышечного тонуса у детей с ГИЭ показало наличие преобладания мышечной гипотонии, которая нарастала с увеличением степени тяжести, соответственно при легкой - $35,9\pm 7,7\%$, средней - $36,1\pm 8,0\%$, тяжелой - $48,6\pm 8,4\%$. Также выявлено нарастание дистонии по мере увеличения тяжести состояния, так при легкой степени дистония отмечена у - $15,4\pm 5,8\%$, при среднетяжелой - у $22,2\pm 6,9\%$, при тяжелой - у $28,6\pm 7,6\%$ детей. Гипертонус при легкой степени ГИЭ отмечалась у $12,8\pm 5,3\%$ детей, а при среднетяжелой и тяжелой степени она выявлялась значительно чаще и с одинаковой частотой $22,2\pm 6,9\%$, $22,9\pm 7,1\%$.

С нарастанием тяжести ГИЭ также было выявлено увеличение количества детей со сниженными сухожильными рефlekсами. В группе детей с тяжелой степенью у $65,7\pm 7,1\%$ детей сухожильные рефlekсы были снижены, а у $22,9\pm 7,1\%$ и вовсе не вызывались. При легкой степени сухожильные рефlekсы снижены у трети ($35,9\pm 7,7\%$), а при среднетяжелой степени - у половины детей ($50,0\pm 8,3\%$). Физиологические рефlekсы также с нарастанием степени тяжести ГИЭ быстро угасали. Так, при тяжелой степени в $31,4\pm 7,8\%$ случаев, что было достоверно выше по сравнению с легкой и среднетяжелой степенью и в $40,0\pm 8,3\%$ случаев вовсе не вызывались.

При тяжелой степени ГИЭ у четверти больных с достоверно большей частотой выявлялись судороги $25,7\pm 7,4\%$.

В наших исследованиях у детей с ГИЭ при тяжелой степени в $40,0\pm 8,3\%$ случаев наблюдались псевдобульбарные нарушения в виде отсутствия сосательного и глотательного

рефлексов, а также у $34,3 \pm 8,0\%$ детей развились двигательные нарушения. При средне тяжелой ГИЭ двигательные нарушения наблюдались у $5,6 \pm 3,8\%$ детей.

Определение уровня сознания у новорожденных с ГИЭ показало, что при легкой степени у $12,8 \pm 5,3\%$ детей отмечалась гипервозбудимость, при средне тяжелой – у $22,2 \pm 6,9\%$, а при тяжелой ГИЭ – у $31,4 \pm 7,8\%$. Вместе с тем, при тяжелой степени ГИЭ в $2,9 \pm 3,9\%$ случаев у новорожденных выявлена летаргия и у $5,7 \pm 2,0\%$ – кома.

При обследовании новорожденных детей с ГИЭ обращали внимание на цвет кожных покровов. У новорожденных детей при тяжелой степени ГИЭ в $40,0 \pm 8,3\%$ случаев отмечалась бледность, у трети детей – в $31,4 \pm 7,8\%$ отмечалась субиктеричность, у подавляющего большинства детей – $85,7 \pm 7,7\%$ выявлялся пероральный цианоз, у $40,0 \pm 8,3\%$ дистальный цианоз, что было достоверно выше, чем при легкой и среднетяжелой степени ($P < 0,001$).

В нашей работе также было проведено исследование состояния вегетативной нервной системы (табл.3.2). Проявлением вегетативной дисфункции могут быть мраморность кожного покрова и акроцианоз, которые также при тяжелой степени ГИЭ достоверно чаще ($P < 0,001$) встречались, чем при легкой и среднетяжелой степени. Вегетативные нарушения со стороны сердца с нарастанием степени тяжести ГИЭ были достоверно более выражены, особенно при тяжелой степени, причем наличие и тахикардии и брадикардии у этих детей превышало таковое, чем в 1-й и во 2-й группе ($P < 0,001$). Для детей с ГИЭ легкой и среднетяжелой степени было характерно преобладание детей с тахикардией, а при тяжелой степени чаще встречалась брадикардия, которая выявлялась более, чем у половины детей ($54,2 \pm 8,4\%$), что свидетельствовало о наличии у них гиперпарасимпатикотонии. У $42,9 \pm 8,4\%$ детей с тяжелой степенью ГИЭ выявлялась тахикардия.

Со стороны дыхательной системы во всех группах было отмечено преобладание детей с тахипноэ, число которых

увеличивалось по мере увеличения степени тяжести. Так, у детей со среднетяжелой ($30,6 \pm 7,7\%$) и тяжелой ($45,7 \pm 8,4\%$) ГИЭ тахипноэ выявлялось достоверно чаще, чем у детей с легкой степенью ($23,0 \pm 6,7\%$). Следует отметить, что наибольшее число детей, у которых выявлялось брадипноэ, наблюдалось среди новорожденных с тяжелой степенью ГИЭ ($37,1 \pm 8,2\%$), что было в 7,1 раза больше, чем у детей с легкой степенью ГИЭ и в 4,5 раза больше, чем у детей со среднетяжелой степенью.

Приступы апноэ при тяжелой степени ГИЭ встречались у трети ($31,4 \pm 7,8\%$) больных новорожденных, что было в 5,6 раза больше, чем у детей со средне-тяжелой формой. При легкой степени ГИЭ в наших наблюдениях апноэ у детей не встречалось.

Выявленные нами вегетативные нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта, в виде метеоризма, рвоты, срыгивания, запоров, диареи, также по мере увеличения степени тяжести ГИЭ нарастали. Так, наличие метеоризма у детей при среднетяжелой ($80,6 \pm 7,7\%$) и тяжелой степени ($88,6 \pm 5,4\%$) наблюдалось у подавляющего большинства новорожденных и, было достоверно больше, чем при легкой степени ГИЭ ($58,9 \pm 6,7\%$). Рвота и срыгивание при среднетяжелой ($50,0 \pm 8,3\%$) и тяжелой ($54,2 \pm 7,0\%$) степени было более, чем у половины детей, а при легкой степени ГИЭ – более, чем у трети новорожденных ($35,9 \pm 7,9\%$). Диспепсические расстройства в виде диареи и запоров также у детей со среднетяжелой и тяжелой степенью встречались с достоверно большей частотой, чем при легкой степени.

Одним из важных показателей состояния ребенка является нарушение терморегуляции, которое при легкой степени отмечалось у трети больных детей ($30,8 \pm 7,4\%$), при среднетяжелой ($44,4 \pm 8,3\%$) и тяжелой ($68,6 \pm 7,9\%$) степени количество этих детей достоверно увеличивалось.

Таблица 3.5.

Вегетативные нарушения и состояние кожных покровов у новорожденных детей с перинатальным поражением ЦНС в зависимости от степени тяжести

Клинические признаки	1 группа, n –39, абс/%		2 группа n –36, абс/%		3 группа n –35, абс/%	
Цвет кожных покровов:						
розовый	14	35,9±7,6**	9	25,0±7,2	-	
бледный	3	7,7±4,3	3	8,3±4,6	14	40,0±8,3**^
субиктеричный	4	10,3±4,9	7	19,4±6,6**	11	31,4±7,8**^
пероральный цианоз	20	51,2±8,0	21	58,3±8,2**	30	85,7±7,7**^
дистальный цианоз	-	-	1	2,8±2,74	14	40,0±8,3^
мраморность	6	15,9±5,8	6	16,7±6,2	9	25,7±7,4**^
акроцианоз	3	7,7±4,3	5	13,9±5,8**	8	22,9±7,1**^
Тоны сердца:						
тахикардия	7	17,9±6,1	11	30,6±7,7**	15	42,9±8,4** ^
брадикардия	2	5,1±3,5	4	11,1±5,2**	19	54,2±8,4**^
Дыхание:						
тахипноэ	9	23,0±6,7	11	30,6±7,7**	16	45,7±8,4** ^
брадипноэ	2	5,1±3,5	3	8,3±4,6*	13	37,1±1 8,2** ^
приступы апноэ	-		2	5,6±3,8	11	31,4±17,8^
Функциональные нарушения ЖКТ (сочетание):						
метеоризм	23	58,9± 6,7	29	80,6±7,7**	31	88,6±5,4**^
рвота и срыгивания	14	35,9±7,9	18	50,0±8,3**	22	54,2±7,0** ^
запор	3	7,7±4,2	5	13,9±5,8**	8	22,9±7,1**^
диарея	9	23,0±6,7	11	30,6±7,7**	16	45,7±8,4**
Нарушение терморегуляции	12	30,8±7,4	16	44,4±8,3**	24	68,6±7,8** ^

Примечание: * - достоверность данных между группами по сравнению с 1-ой группой (* - P<0,01; ** - P<0,001); ^ -

достоверность данных между 2 группой по сравнению с 3-ей группой (^ - $P < 0,001$);

Далее нами была проанализирована частота встречаемости неврологических синдромов у наблюдавшихся новорожденных детей в зависимости от степени тяжести ГИЭ (табл.3.6.).

Таблица 3.6.

Сравнительная характеристика частоты встречаемости неврологических синдромов у новорожденных детей в группах наблюдения

Неврологические синдромы	I группа, n –39, абс/%		II группа n –36, абс/%		III группа n –35, абс/%	
	абс	абс/%	абс	абс/%	абс	абс/%
Синдром общего угнетения	21	53,0±8,0 [^]	27	75,0±7,2*	33	94,3±3,9
Синдром повышенной нейро-рефлекторной возбудимости	5	12,8±5,3	8	22,2±6,9*	11	31,4±7,8* ^^^
Судорожный синдром	1	2,6±2,5	2	5,6±3,8*	9	25,7±7,4* ^^^
Гипертензионно-гидроцефальный	-		1	2,8±2,7	7	20,0±6,8 ^{^^^}
Кома	-		-		2	5,7±3,9
Вегето-висцеральные дисфункции	28	71,8±7,2*	23	63,9±8,0 ^{^^}	21	60,0±8,3
Двигательные нарушения	-		2	5,6±3,8	12	34,2±8,0 ^{^^^}
Сочетание двух и более синдромов	18	46,2±8,0	23	63,9±8,0*	31	88,6±5,3* ^^^

Примечание: * - достоверность данных между группами по сравнению с 1-ой группой

(* - $P < 0,001$); ^ - достоверность данных между 2 группой по сравнению с 3-ой группой

(^ - $P < 0,05$; ^^ - $P < 0,01$; ^^ ^ - $P < 0,001$).

Наши исследования показали, что в остром периоде у всех детей преобладал синдром общего угнетения. Так при легкой степени ГИЭ у детей данный синдром отмечался у $53,0 \pm 8,0\%$ детей, при средней степени тяжести у $75,0 \pm 7,2\%$, а при тяжелой – у $94,3 \pm 3,9\%$ новорожденных. Синдром повышенной нейро-рефлекторной возбудимости при ГИЭ легкой степени встречался только у $12,8 \pm 5,3\%$ новорожденных, при среднетяжелой степени у $22,2 \pm 6,9\%$, а при тяжелой степени у трети детей - $31,4 \pm 7,9\%$. Судорожный синдром с наибольшей частотой, наблюдался у детей с тяжелой степенью ГИЭ $25,7 \pm 7,4\%$, а при легкой и среднетяжелой степени – лишь в единичных случаях ($2,6 \pm 2,5\%$ и $5,6 \pm 3,8\%$).

Гипертензионно-гидроцефальный синдром у детей с тяжелой степенью ГИЭ отмечался у 1/5 части детей - $20,0 \pm 6,8\%$. При среднетяжелой степени ГИЭ гипертензионный синдром встретился лишь у одного ребенка - $2,8 \pm 2,7\%$.

В подостром периоде у значительной части всех новорожденных с ГИЭ проявлялся синдром вегето-висцеральных дисфункций, который чаще отмечался у детей с ГИЭ легкой степени ($71,8 \pm 7,2\%$). Синдром двигательных нарушений, как было показано выше, чаще отмечался при тяжелой степени ГИЭ и был более чем у трети больных новорожденных, а у двоих детей была выявлена кома.

Таким образом, у новорожденных детей с тяжелой степенью ГИЭ в подавляющем большинстве отмечается синдром общего угнетения ($94,3 \pm 3,9\%$), у одной трети больных ($31,4 \pm 1,4\%$) – синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости, у одной четвертой ($25,7 \pm 7,8\%$) судорожный и у одной пятой ($20,0 \pm 7,4\%$) - гипертензионно-гидроцефальный синдром. Для значительной части больных во всех группах, особенно при тяжелой степени ($88,6 \pm 5,3\%$),

было характерно наличие сочетанных синдромов и постепенная их смена. Так, по мере уменьшения синдрома угнетения, нарастали признаки возбуждения, судорожного синдрома, синдрома вегето-висцеральных нарушений. В подостром периоде у новорожденных детей при легкой и среднетяжелой степени вегетовисцеральные нарушения встречались чаще, чем при тяжелой степени, а также при тяжелой степени, более чем у трети больных развились двигательные нарушения.

Смена синдромов в динамике в течение неонатального периода и к его концу в сторону увеличения судорожного синдрома, гипертензионно-гидроцефального синдрома у новорожденных детей со среднетяжелым и, особенно с тяжелым течением, вероятно, связана с динамикой морфологических изменений в тканях различных структур головного мозга. Следует отметить, что морфофункциональная незрелость ЦНС часто обуславливает однотипность и генерализованность клинических проявлений, независимо от степени, характера, глубины и распространенности внутримозговых повреждений, что затрудняет их диагностику.

§ 3.3. Характеристика структурных поражений ЦНС у новорожденных детей при ГИЭ по данным нейросонографии

В настоящее время широкое использование современных нейровизуализирующих технологий позволяет получить данные о структурных нарушениях головного мозга у новорожденных. Нейросонография является ценным методом диагностики постгипоксической патологии головного мозга у новорожденных, позволяющий благодаря неинвазивности, отсутствию лучевой нагрузки и специальной подготовки пациента, возможности многократного исследования, выявлять различные структурные поражения, сроки их возникновения и динамику изменений.

В наших исследованиях был проведен анализ структурных поражений у новорожденных детей с ГИЭ в зависимости от степени тяжести в раннем неонатальном периоде (табл.3.7.).

Из данной таблицы видно, что более чем у половины детей всех групп была выявлена морфо-функциональная незрелость головного мозга, а наибольшее число таких детей было среди новорожденных с легкой степенью ГИЭ, что составило $71,8 \pm 7,2\%$. У новорожденных детей с ГИЭ 1 степени в $15,9 \pm 5,8\%$ случаев были выявлены мелкие псевдокисты сосудистого сплетения, что встречалось в 2,3 раза чаще, чем у детей со среднетяжелой ГИЭ, а у новорожденных третьей группы таких изменений не было обнаружено.

Таблица 3.7.

Характеристика нейросонографических признаков у новорожденных детей с перинатальным поражением ЦНС в зависимости от степени тяжести в раннем неонатальном периоде

Показатели	I группа, n –39		II группа n –36		III группа n –35	
	абс	%	абс	%	абс	%
Морфофункциональная незрелость	28	$71,8 \pm 7,2$	19	$52,7 \pm 8,3$	23	$65,7 \pm 7,1$
Мелкие псевдокисты сосудистого сплетения	6	$15,9 \pm 5,8$ *	2	$5,6 \pm 3,8$	-	-
СЭК 1 в стадии лизиса	5	$12,8 \pm 5,3$	5	$13,9 \pm 5,8$	-	-
СЭК 1-2 ст	-	-	8	$22,2 \pm 6,9^{\wedge}$	2	$5,7 \pm 3,9$
ВЖК I	-	-	4	$11,1 \pm 5,2$	-	-
ВЖК II	-	-	-	-	3	$8,6 \pm 4,7$
ВЖК III	-	-	-	-	6	$17,1 \pm 6,4$

ПВЛ	-	-	-	-	5	14,3±5,9
Отёк мозга	-	-	-	-	14	40,0±8,3 [^]
Вентрикуломегалия	-	-	-	-	7	20,0±6,8

Примечание: * - достоверность данных между группами по сравнению с 1-ой группой (*- P<0,001); [^] - достоверность данных между 2 группой по сравнению с 3-ой группой ([^]-P<0,001);

Псевдокисты представляют собой кистозные образования под эпендимой боковых желудочков мозга в области латеральных углов и в области бороздки между зрительным бугром и головкой хвостатых ядер. Возникая на определенной стадии внутриутробного развития в сосудистых сплетениях в норме, образуются кисты, которые в большинстве случаев затем исчезают. Но также кисты могут быть следствием перенесенного кровоизлияния в сосудистое сплетение, могут возникать после рождения и со временем рассасываются.

Также нами были выявлены субэпендимальные кровоизлияния (СЭК 1) в стадии лизиса у детей 1-й и 2-й группы, которые встречались примерно с одинаковой частотой и составили соответственно 12,8±5,3% и 13,9±5,8%. Больше всего СЭК 1-2 стадии встречались у детей со среднетяжелой степенью, и частота их составила 22,2±6,9%, а при тяжелой степени - 5,7±3,9%.

В результате воздействия таких повреждающих факторов, как недоношенность, гипоксия, ишемия головного мозга и другие происходит разрыв сосудов зародышевого матрикса и возникает ВЖК, что особенно часто встречается у недоношенных детей. В наших исследованиях ВЖК I степени встречались у детей с ГИЭ при среднетяжелой степени в 11,1±5,2% случаях, при тяжелой степени у 8,6±4,7% новорожденных детей были выявлены ВЖК II степени и у 17,1±6,4% - ВЖК III степени.

При тяжелой степени ГИЭ у $14,3 \pm 8,3\%$ наблюдавшихся больных была выявлена перивентрикулярная лейкомаляция (ПВЛ), что характеризуется возникновением очагов некроза в перивентрикулярных зонах, белого вещества полушарий головного мозга у новорожденных детей. Важно отметить, что данная форма поражения белого вещества полушарий головного мозга может явиться одной из причин ДЦП, судорожного синдрома, задержки психомоторного развития. Важно отметить, что при тяжелой форме ГИЭ также в $40,0 \pm 8,3\%$ случаев у новорожденных развивались признаки отека головного мозга, преимущественно генерализованного характера, и у $20,0 \pm 6,8\%$ детей была выявлена вентрикуломегалия.

При наблюдении за детьми в динамике на 14-15 дни жизни (2-я неделя) в 1-й группе у подавляющего большинства детей на НСГ отмечено улучшение - $71,8 \pm 7,2\%$, во 2-й группе - у половины детей - $50,0 \pm 8,3\%$, в 3-й группе - у трети детей - $31,4 \pm 7,8\%$ (табл.3.8.). Мелкие псевдокисты у детей 1-й группы еще сохранялись в том же количестве, во 2-ой группе они уже отмечались у троих детей, а в 3-й группе появились у двоих детей.

СЭК 1 в 1-й группе уже отмечалась только у одного ребенка, во 2-й группе частота последних увеличилась уже до $22,2 \pm 6,9\%$. И в 3-й группе они появились у двоих детей. Частота встречаемости ВЖК II-III степени при тяжелой форме на 2-й неделе жизни несколько снизилась, соответственно до $5,7 \pm 3,9\%$ и $14,3 \pm 5,9\%$, но ПВЛ произошла уже у большего числа детей - $22,9 \pm 7,1\%$.

При тяжелой форме на 2-й неделе жизни значительно уменьшилось количество детей с отеком мозга до $5,7 \pm 3,9\%$. Однако, число детей с прогрессирующей вентрикуломегалией и вторичной гидроцефалией было достаточно высоким - $14,3 \pm 5,9\%$.

Таблица 3.8.

Характеристика нейросонографических признаков у новорожденных детей с перинатальным поражением ЦНС в зависимости от степени тяжести на 2-й неделе жизни

Показатели	I группа, n -39		II группа n -36		III группа n -35	
	абс	%	абс	%	абс	%
В динамике с улучшением	28	71,8±7,2 *	18	50,0±8,3 [^] ^	11	31,4±7,8
Мелкие псевдокисты сосудистого сплетения	5	12,8±5,3 *	3	8,3±4,6	2	5,7±3,9
СЭК 1 в стадии лизиса	1	2,6±3,5*	8	22,2±6,9 ^^	1	2,9±2,9
ВЖК 1 в стадии лизиса	-	-	2	5,6±3,8 [^]	1	2,9±2,9
ВЖК II	-	-	-	-	2	5,7±3,9
ВЖК III	-	-	-	-	5	14,3±5,9
ПВЛ	-	-	-	-	8	22,9±7,1
Отёк мозга	-	-	-	-	2	5,7±3,9
Прогрессирующая вентрикуломегалия	-	-	-	-	5	14,3±5,9
Вторичная гидроцефалия	-	-	-	-	5	14,3±5,9

Примечание: * - достоверность данных между группами по сравнению с 1-ой группой (* - P<0,001); ^ - достоверность данных между 2 группой по сравнению с 3-ой группой (^ - P <0,01, ^^ - P<0,001);

Таблица 3.9.

Характеристика нейросонографических признаков у новорожденных детей с тяжелой степенью тяжести перинатальных поражений ЦНС в динамике неонатального периода

Показатели	Ранний неонатальный период n -35		2-я неделя жизни n -35		1месяц жизни n -35	
	абс	%	абс	%	абс	%
В динамике с улучшением	-	-	11	31,4±7,8 [^] ^{^^}	16	45,7±8,4
Мелкие псевдокисты сосудистого сплетения	-	-	2	5,7±3,9	4	11,4±5,4 [^]
СЭК- 1ст лизис	-	-	1	2,9±2,8	1	2,9±2,8
ВЖК Iст лизис	-	-	1	2,9±2,8	-	-
ВЖК II	3	8,6±4,7**	2	5,7±3,9	1	2,9±2,8
ВЖК III	6	17,1±6,4*	5	14,3±5,9 [^] ^{^^}	2	5,7±3,9
ПВЛ	5	14,3±5,9	8	22,9±7,1* ^{*^^}	6	17,1±6,4
Отёк мозга	14	40,0±8,9**	2	5,7±3,9	-	-
Прогрессирующая вентрикуломегалия	7	20,0±6,8**	5	14,3±5,9 [^] ^{^^}	3	8,6±4,7
Вторичная гидроцефалия	-	-	5	14,3±5,9 [^]	3	8,6±4,7

Примечание: * - достоверность данных между группами по сравнению с 1-ой группой (* - P <0,01, ** - P<0,001); ^ - достоверность данных между 2группой по сравнению с 3-ой группой (^ - P <0,05; ^^ - P <0,01; ^^ - P<0,001).

В наших исследованиях была проанализирована динамика структурных изменений у новорожденных детей

при ГИЭ тяжелой степени к концу 1 месяца жизни (3-4 неделя). Было выявлено, что к этому времени на картине нейросонографии у наблюдаемых новорожденных улучшение отмечалось у $45,7 \pm 8,4\%$ детей.

Мелкие псевдокисты формируются у $11,4 \pm 5,4\%$ новорожденных. СЭК 1в стадии лизиса и ВЖК II наблюдались в единичных случаях. ВЖК III степени сохранялось только у двоих детей, ПВЛ продолжали сохраняться в $17,1 \pm 6,4\%$ случаях. Отек мозга к этому времени разрешился уже у всех детей, у троих детей - $8,6 \pm 4,7\%$ сохранялась прогрессирующая вентрикуломегалия и формировалась вторичная гидроцефалия.

Таким образом, оценка структурных изменений головного мозга по данным нейросонографии, у новорожденных детей с ГИЭ в зависимости от степени тяжести, в раннем неонатальном периоде и в динамике в позднем неонатальном периоде, показала более выраженные поражения ЦНС по мере увеличения степени тяжести. Оценка неврологических проявлений и данных нейросонографии способна решить вопрос о топике, характере, степени повреждений головного мозга, положительной динамике или прогрессировании патологии. Для уточнения характера поражения мозга требуется наблюдение в динамике за наиболее неблагоприятными нейросонографическими признаками, к которым относится продолжение расширения желудочковой системы мозга.

Ранняя дифференциальная диагностика перинатальных повреждений мозга позволяет провести своевременную оценку прогноза с целью эффективного лечения, реабилитации и предупреждения осложнений. Распространенность повреждений головного мозга геморрагического и ишемического характера зависит от длительности гипоксии и воздействия различных неблагоприятных факторов риска в антенатальном и перинатальном периодах. В этой связи, выявление беременных высокого риска может явиться начальным этапом профилактических мероприятий.

ГЛАВА IV. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

§ 4.1. Содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , TNF α в сыворотке крови у новорожденных детей в зависимости от степени тяжести ГИЭ

До настоящего времени изучено множество патогенетических механизмов развития гипоксических повреждений головного мозга, которые в конечном счете приводят к отеку и гибели нейронов головного мозга [138]. Исследования многочисленных авторов подтверждают, что иммунная система играет немаловажную роль в патогенезе, в клиническом течении и в исходе гипоксических и инфекционных заболеваний у новорожденных детей. В патогенезе гипоксии большое значение играют про- и противовоспалительные интерлейны, которые высвобождаются в ЦНС микроглие. Активированные микроглиальные клетки и астроциты продуцируют различные иммуноактивные молекулы, такие как цитокины (интерлейкины), факторы роста и хемоаттрактанты.

Цитокины могут оказывать как про- и противовоспалительное действие [113, 160].

Цитокины являются молекулами полипептидной системы, регулирующими многие жизненно важные процессы в организме, восстанавливающий гомеостаз и обеспечивающий защитную реакцию против патогенов [73].

Тем не менее, выброс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, в том числе и белков острой фазы представляет собой неспецифическую реакцию иммунокомпетентных клеток на антигенный стимул любой природы [87].

В то же время в литературе недостаточно исследований, посвященных сравнительной оценке содержания медиаторов межклеточного взаимодействия у недоношенных детей с

гипоксически-ишемической энцефалопатией различной степени тяжести.

Следовательно, изучение влияния цитокинового профиля на патогенез гипоксии как одного из механизмов повреждения головного мозга поможет совершенствовать подходы и точно, преждевременно прогнозировать возникновение заболеваний у новорожденных детей.

Иммунологические исследования были проведены у 105 новорожденных детей, из них 75 детей были из основной группы с гипоксически-ишемической энцефалопатией и 30 детей из группы контроля. В зависимости от тяжести гипоксического поражения ЦНС новорожденные были разделены на 3 группы: 1-группа (n-25) – новорожденные с церебральной ишемией 1-й степени (легкой); 2-группа (n-27) – новорожденные с церебральной ишемией 2-й степени (средней тяжести); 3-группа (n-23) – новорожденные с церебральной ишемией 3-й степени (тяжелой). Группу контроля составили 30 здоровых новорожденных ребенка (рис.4.1.).

Выбор для исследования маркеров был продиктован поставленной целью оценить роль провоспалительных (ИЛ-1 β , TNF- α) и противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов в патогенезе ГИЭ у новорожденных детей [13]. Доказано, что типы иммунного ответа взаимосвязаны с одним из видов активации лимфоцитов с преимущественным участием клонов Т- лимфоцитов хелперов первого типа Th1 или второго типа Th2.

Активация Th1, продуцирующих IFN- γ , ИЛ-2, TNF- α , ведет к стимуляции функций Т-лимфоцитов и макрофагов и развитию иммунного ответа по клеточному типу, который имеет решающее значение в защите от внутриклеточных микроорганизмов, включая вирусы. Th2 секретируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-10 и ИЛ-13 стимулирующие преимущественно гуморальное звено иммунитета [73; с.16-22]. Продукты Th₁ и Th₂ негативно влияют на активацию противоположных клонов.

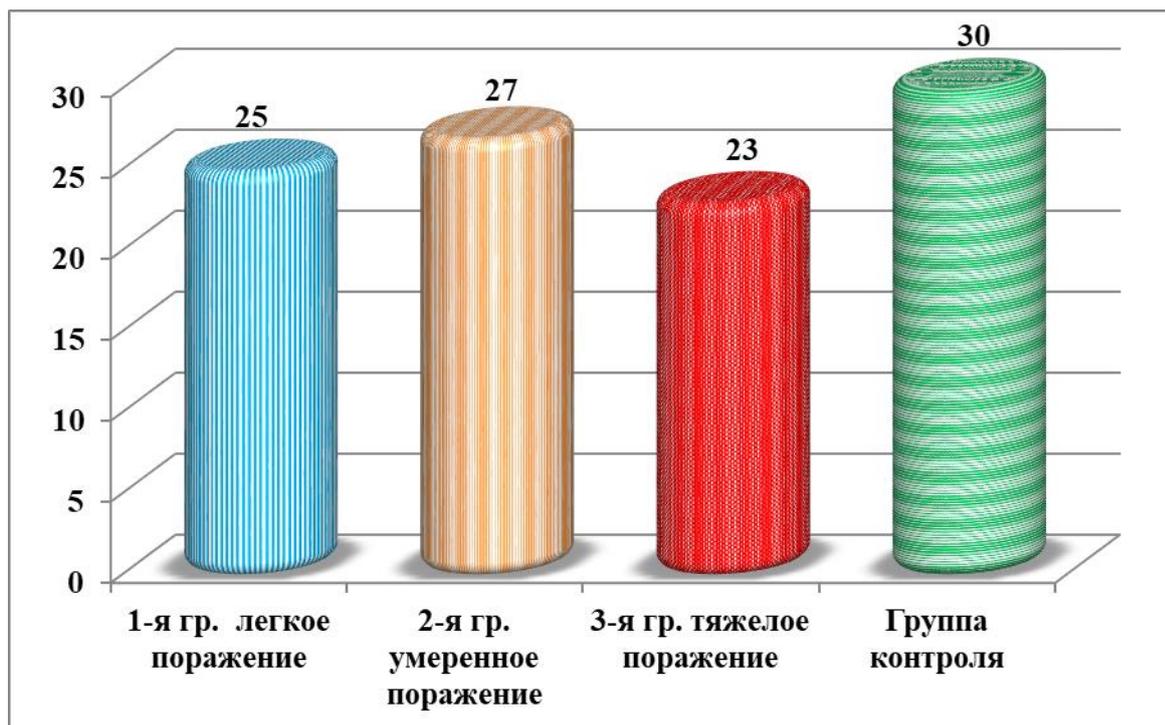


Рис.4.1. Количество обследованных детей в группах.

Избыточная активация какого-то из типов Th-клонов может направить иммунный ответ по одному из вариантов развития. Хроническая несбалансированность активации Th-клонов приводит к развитию иммунопатологических состояний [38]. Согласно ряду исследований, дисбаланс цитокинов Th-1- типа с Th-2 коррелируют с тяжестью ишемического повреждения головного мозга [Murray K.N., Parry-Jones A.R.].

В настоящем исследовании проведено изучение состояния цитокинового статуса у недоношенных новорожденных детей в зависимости от степени тяжести гипоксически-ишемической энцефалопатии. Данное исследование проведено в динамике, в ходе которого была выявлена взаимосвязь иммунологических показателей между степенью тяжести ГИЭ у новорожденных детей при рождении и в первые дни жизни (табл.4.1).

Таблица 4.1.

Концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у обследованных новорожденных детей, (M±m)

В ПУПОВИННОЙ КРОВИ				
Цитокины	Контрольная группа (n=30)	Новорожденные с ГИЭ		
		1-степени (n=25)	2-степени (n=27)	3-степени (n=23)
ИЛ-1β, пг/мл	208,6±9,37	448,3±23,90*	615,7±16,93*	879,9±15,51*
ФНО-α, пг/мл	21,1±0,63	39,7±1,69*	57,6±0,72*	72,8±2,76*
В ВЕНОЗНОЙ КРОВИ (поздний неонатальный период)				
ИЛ-1β, пг/мл	211,2±5,66	453,4±8,64*	628,3±18,48*	892,4±21,63*
TNF-α пг/мл	23,3±1,55	41,8±1,50*	61,5±3,02*	76,2±2,65*

Примечание: *Значения достоверны по отношению к контрольной группе (P<0,05- 0,001)

Для более объективной оценки данной патологии мы сравнили концентрацию вышеперечисленных медиаторов иммунного ответа в сыворотке пуповинной и венозной крови. При этом выявлены статистически значимые различия между показателями в наблюдаемых группах и группой контроля (Рис. 4.2.).

Есть мнение, что динамическое исследование цитокинового профиля (ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, TNF-α) у новорожденных в возрасте 21–28 дней позволяет определить общую реакцию иммунной системы и оценить характер течения патологического процесса в зависимости от степени тяжести гипоксии [81]. Также в работах *Winerdal M* и др. (2012) и *Wanqiu Chen* и др. (2009) установлено, что воспалительные изменения в очаге гипоксии-ишемии поддерживаются на

протяжении нескольких месяцев, а также причастны к более обширному поражению мозга и усилению тяжести состояния в отдаленном периоде. ИЛ-1 подразделяется на 2 фракции - ИЛ-1 α и ИЛ-1 β . У человека ИЛ-1 β является главной формой секреторного ИЛ-1 в окружающую среду [73].

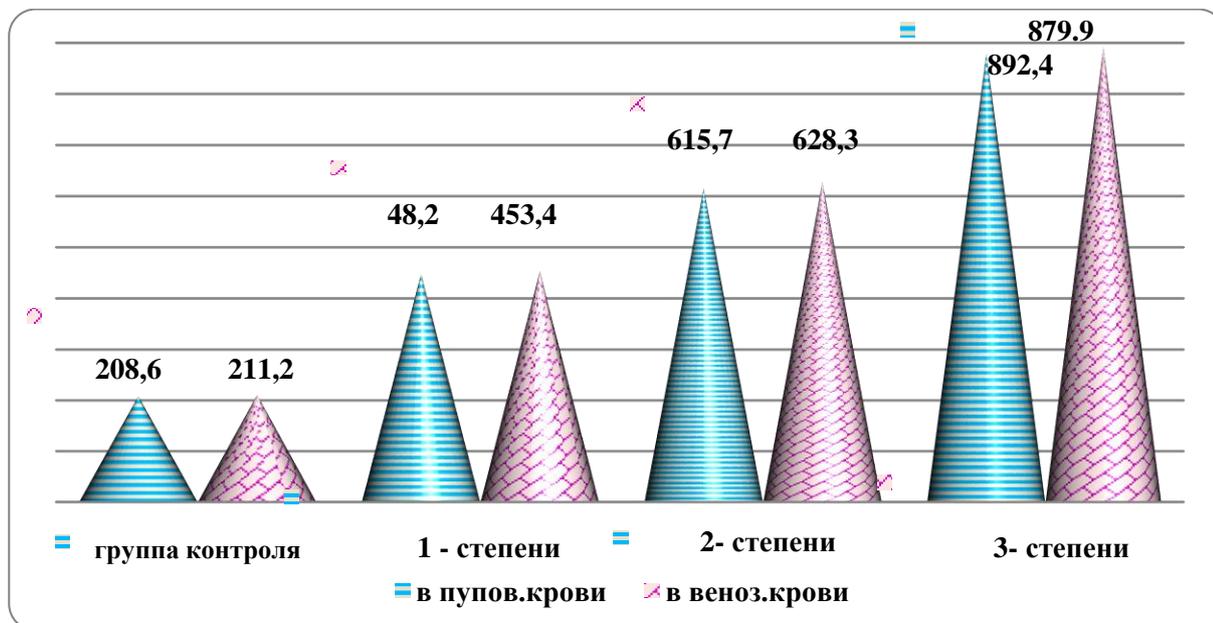


Рис.4.2.Сравнительные показатели содержания ИЛ-1 β в сыворотке крови у обследованных новорожденных, пг/мл.

ИЛ-1 β - это секреторный цитокин, действующий и на местном, и на системном уровнях. ИЛ-1 вырабатывается многими клетками организма. Главными его источниками в организме являются моноциты и макрофаги [73], а также клетки Лангерганса, купферовские клетки в печени, эндотелиальные клетки, фибробласты, кератиноциты, клетки микроглии, натуральные киллеры, нейтрофилы, Т-лимфоциты, кроме Т-хелперов, дендритные клетки и др [7].

Согласно литературным данным, иммунологические показатели пуповинной крови новорожденного отражают степень зрелости и функциональную активность иммунной системы плода, сформировавшейся на протяжении

антенатального периода, и являются стартовой характеристикой различного рода резистентности новорожденного, от которой в дальнейшем зависит риск реализации любой патологии.

Установлено, что ИЛ-1 β играет немаловажную роль в генезе поражений головного мозга из-за гипоксии-ишемии [Gardosi].

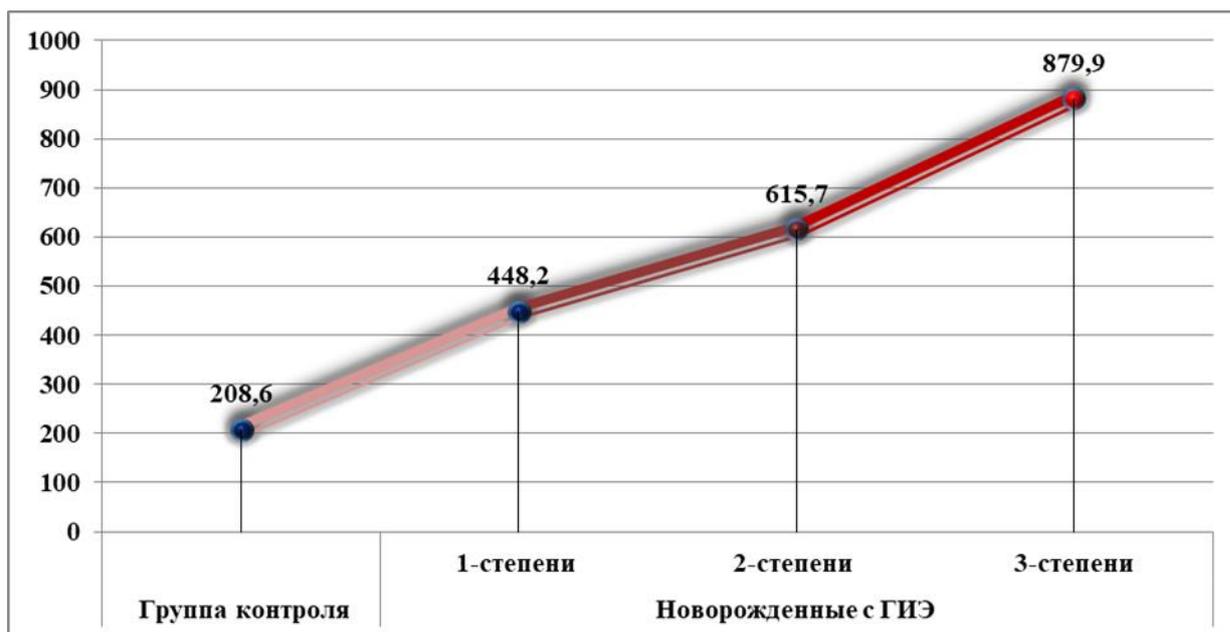


Рис.4.3. Содержание ИЛ-1 β в сыворотке пуповинной крови новорожденных детей, пг/мл.

Проведенные нами исследования выявили максимально достоверное повышение концентрации ИЛ-1 β в сыворотке пуповинной крови в группе новорожденных с 3 – степенью ГИЭ в 4,2 раза, в группе со 2-степенью ГИЭ в 2,9 раз и в группе с 1-степенью ГИЭ в 2,1 раза по сравнению с показателями контрольной группы (3-степень 879,9 \pm 15,51пг/мл, 2-степень 615,7 \pm 16,93пг/мл, 1-степень 448,3 \pm 23,90 пг/мл, против 208,6 \pm 9,37) (P<0,001) (Рис.4.3.).

Следует отметить также, что содержание ИЛ-1 β у детей с ГИЭ 3 степени было в 1,9 раза выше, чем у детей с ГИЭ 1 степени и в 1,4 раза выше, чем у детей с ГИЭ 2 степени.

Согласно литературным данным, содержание интерлейкинов в сыворотке венозной крови зависит от их поступления в кровь и вовлечения системных реакций иммунитета в воспалительный ответ.

Сравнительный анализ содержания ИЛ-1 β показал, что в зависимости от степени тяжести переносимой ГИЭ его концентрация увеличивается, т.е. прослеживается определенная закономерность(Рис.4.4).

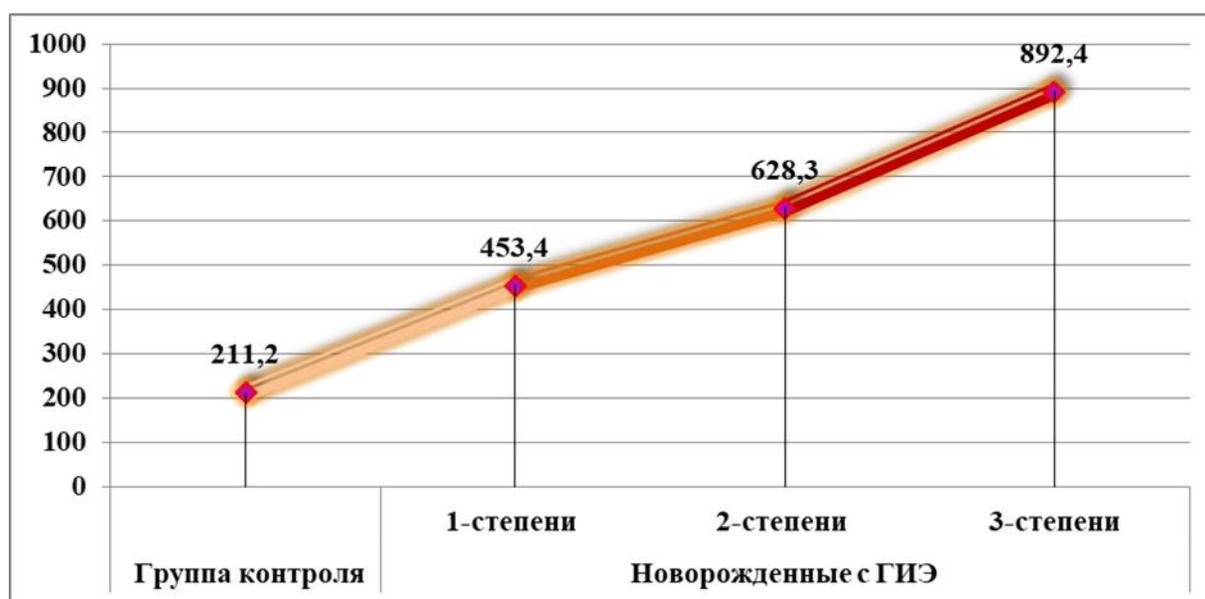


Рис.4.4.Содержание ИЛ-1 β в сыворотке венозной крови новорожденных детей в позднем неонатальном периоде, пг/мл.

Так, уровень ИЛ-1 β в сыворотке венозной крови в позднем неонатальном периоде был достоверно выше контроля, также как в исследовании пуповинной крови во всех наблюдаемых группах, в особенностях в группе новорожденных с 3-степенью ГИЭ, что в среднем составило $892,4 \pm 21,63$ пг/мл, в группе со 2-степенью ГИЭ - $628,3 \pm 18,48$ пг/мл, в группе с 1-степенью ГИЭ - $453,4 \pm 8,64$ пг/мл, тогда как в контрольной группе концентрация данного цитокина составила $211,2 \pm 5,66$ пг/мл (Рис 4.4.).

Установленное высокое содержание ИЛ-1 β у новорожденных с ГИЭ указывает о его местном высвобождении в головном мозге после первоначального внутриутробного гипоксического повреждения и играет основную роль в продолжающемся нейроповреждении.

Следовательно, у новорожденных с ГИЭ различной степени тяжести концентрация ИЛ-1 β была существенно выше, чем, у младенцев группы контроля. Повышение уровня ИЛ-1 β и в пуповинной, и в венозной крови у детей с ГИЭ способствует нейроповреждению, причем, чем более выражена степень поражения ЦНС при ГИЭ, тем выше уровень содержания ИЛ-1 β в сыворотке крови.

Следующим этапом нашего исследования было изучение уровня синтеза фактора некроза опухолей – альфа (ФНО- α , TNF- α), как одного из значимых медиаторов воспалительного ответа.

TNF- α является ключевым провоспалительным цитокином, производство которого регулируется на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях [Ceccon MEJR. *Interleucinas na encefalopatia hipóxicoisquêmica. JPediatr (RioJ)*. 2003;79(4). doi: 10.1590/s0021-75572003000400002.]. Продукентами являются астроциты, макрофаги, тучные клетки, эндотелиальные клетки, Т-лимфоциты, клетки периферической иммунной системы, под воздействием которых, повышается.

Экспрессия клеточных молекул адгезии сосудистой стенки, а также процесс миграции лимфоцитов в участок воспаления, синтеза лейкотриенов, простагландинов, матриксных металлопротеиназ, и активация лимфоцитов с фибробластами. TNF- α стимулирует выработку ИЛ-1 и ИЛ-6, усиливая к нему чувствительность тканей [104]. Согласно работам *Sävman K* и др. (2007) повышенная продукция TNF- α в микроглии и высокий уровень в спинномозговой жидкости ассоциируются с перивентрикулярной лейкомаляцией и постгеморрагической ветрикуломегалией, что в будущем приводит к неврологическому дефициту [141].

Однако необходимо отметить, что согласно многочисленным исследованиям роль этого цитокина двойка. Одни данные демонстрируют пагубное влияние TNF- α на головной мозг [104], тогда как другие предоставляют доказательства того, что ФНО α играет важную роль в восстановлении после поражения ЦНС [153].

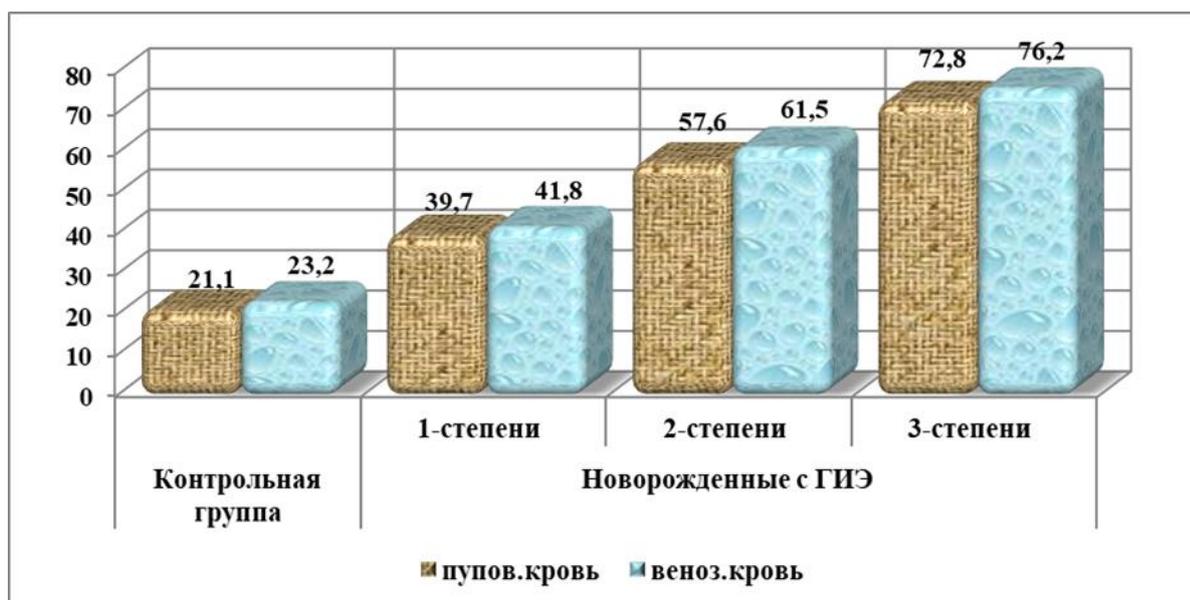


Рис.4.5.Сравнительные показатели содержания TNF- α в сыворотке крови у обследованных новорожденных, пг/мл.

Сравнительный анализ полученных результатов групп младенцев с ГИЭ с различной степенью тяжести, также выявил достоверные данные по отношению к показателям контрольной группы отраженные на рисунке 4.5.

Без сомнения, можно утверждать, что уровень цитокинов, в частности TNF- α может инициировать начало заболевания, его развитии и исход.

При оценке содержания TNF- α в пуповинной крови было выявлено, что уровень данного медиатора был достоверно повышен у новорожденных детей с ГИЭ во всех подгруппах, причем у детей с 3-степенью ГИЭ он был в 3,4 раза выше значений контрольной группы ($72,8 \pm 2,76$ пг/мл против

21,1±0,63 пг/мл в контроле, P<0,001), у новорожденных со 2-степенью ГИЭ - в 2,7 раза вышеданных контрольной группы (57,6±0,72 пг/мл против 21,1±0,63 пг/мл в контроле, P<0,001), у детей с 1- степенью почти в 1,9 раз выше показателей контрольной группы (39,7±1,69 пг/мл против 21,1±0,63 пг/мл, P<0,001) (рис. 4.6).

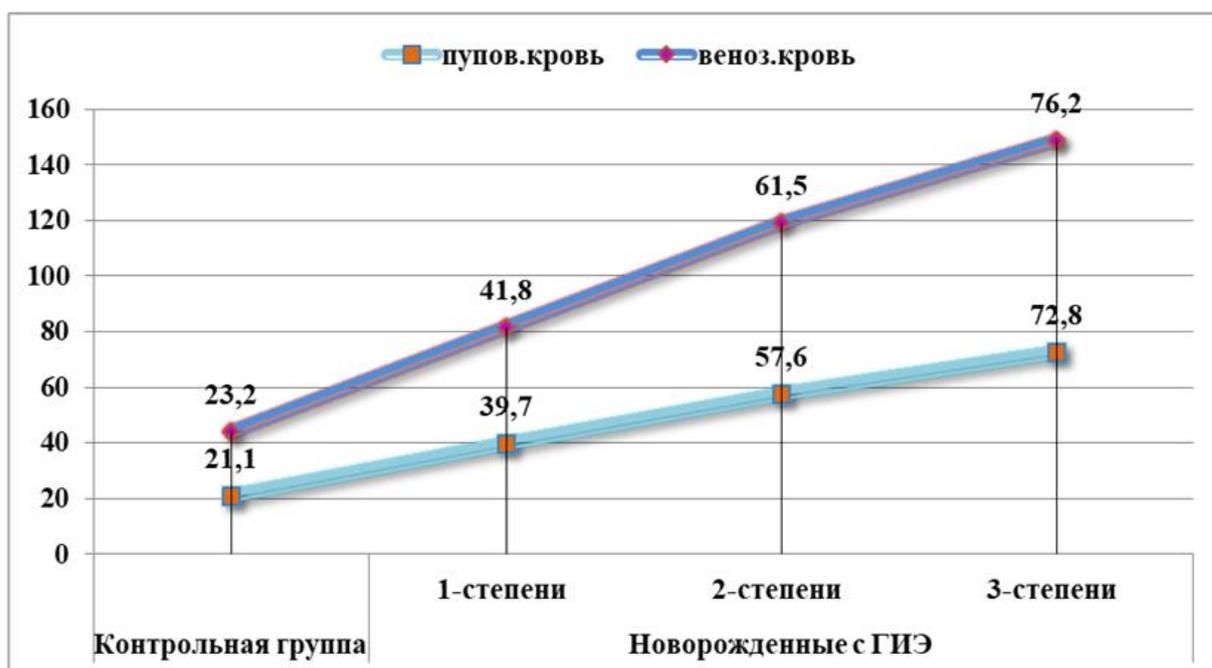


Рис.4.6. Уровень TNF-α у обследованных детей, пг/мл.

Анализ данных TNF-α в венозной крови в позднем неонатальном периоде показал такую же динамику, уровень его в сыворотке крови у новорожденных с ГИЭ был повышен, с максимально значением в группе с 3-степенью (76,2±2,65 пг/мл, против 23,3±1,55 пг/мл, P<0,001) по сравнению с данными детей со 2 -степенью (61,5±3,02 пг/мл, P<0,0019) и 1-степенью тяжести ГИЭ (41,8±1,50 пг/мл, (P<0,001) (рис. 4.6).

Доказано, что согласно механизмам реализации функций, в исследованиях Bowman E. и др. (2012), а также Jacobs S.E. и др. (2013) цитокины провоцируют воспалительные изменения в очаге ГИЭ, что приводит к

вторичному более обширному повреждению паренхимы мозга и усилению тяжести состояния в отдалённом периоде.

Таким образом, некоторые интерлейкины могут обладать нейропротективным действием и оказывать повреждающий эффект. Как видно из приведенных данных, уровень провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α отражает высокую воспалительную активность и является прогностически значимым событием при возникновении перинатального поражения ЦНС.

§ 4.2. Концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-10 сыворотке крови у новорожденных детей с ГИЭ в зависимости от степени тяжести

Общеизвестна взаимосвязь замедляющая действие цитокинов, вырабатываемых Th одного типа, на образование цитокинов Th другого типа.

ИЛ-10 описан как ингибитор активности Th1-клеток. ИЛ-10 является в роли Th2-цитокина, стимулирует гуморальные иммунные реакции и играет роль супрессорного цитокина по отношению воспалительного процесса и адаптивного иммунного реакций клеточного типа [95].

ИЛ-10 известен как наиболее важный противовоспалительный цитокин [98], оказывающий, главным образом, противовоспалительное и антицитокиновое действие. Источниками ИЛ-10 являются Th2-лимфоциты [7], тучные клетки, тимоциты, субпопуляция Т-лимфоцитов с супрессорной активностью-Т-регуляторы 1 [Свиридова В.С., Кологривова Е.Н.]. Макрофаги продуцируют ИЛ-10 под влиянием экзогенных и эндогенных факторов, таких как эндотоксины, катехоламины и др. ИЛ-10 является ингибитором воспаления и цитокинового каскада. Он ингибирует синтез цитокинов Th1, то есть подавляет продукцию активированными моноцитами ИЛ-1 β , TNF- α и ИЛ-6, интерферона, пролиферативный ответ Т – клетки на антигены и митогены [ArimotoT, Choi].

Установленный в начале исследования выраженный синтез цитокинов Th1 типа, требует изучения содержания медиаторов Th2 типа - ИЛ-10, главной функцией которого является ограничение и купирование воспалительного процесса. Полученные результаты приведены в табл 4.2.

Таблица 4.2.

Концентрация противовоспалительного цитокина в сыворотке крови у обследованных новорожденных детей, (M±m)

В ПУПОВИННОЙ КРОВИ				
Цитокины	Контрольная группа (n=30)	Новорожденные с ГИЭ		
		1-степени (n=25)	2-степени (n=27)	3-степени (n=23)
ИЛ-10,пг/мл	3,2±0,20	19,7±0,53*	23,3±0,85*	41,3±1,47*
В ВЕНОЗНОЙ КРОВИ (ранний неонатальный период)				
ИЛ-10,пг/мл	3,5±0,20	11,3±0,60*	19,6±0,92*	49,3±1,90*

Примечание: *Значения достоверны по отношению к контрольной группе (P<0,05- 0,001)

ИЛ-10 нельзя считать однозначно иммуносупрессивным цитокином, поскольку в определенных условиях он может стимулировать синтез иммуноглобулинов, активировать Т-клетки с цитотоксическим действием. Согласно исследованиям, Kremlev S.G. и др. (2005), экспрессия рецепторов к ИЛ-10 в клетках мозга способствует выживанию нейронов и нейроглии посредством блокирования апоптоза данных клеток, снижения уровня провоспалительных цитокинов и экспрессии рецепторов к данным цитокинам, а также посредством уменьшения синтеза оксида азота [128].

Таким образом, данный цитокин снижает деструктивные процессы в мозговой ткани при нейродегенеративных заболеваниях.

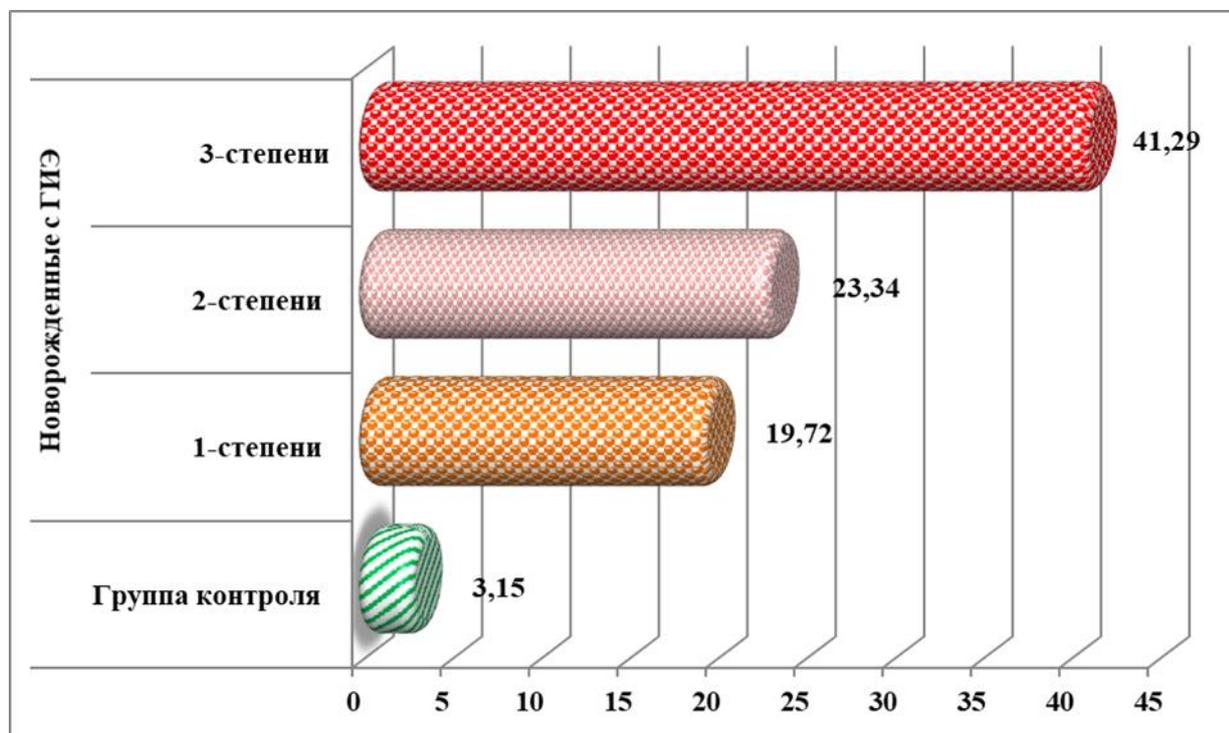


Рис 4.7. Содержание ИЛ-10 в сыворотке пуповинной крови у обследованных детей

В нашем исследовании было отмечено (Рис.4.7.), что уровень ИЛ-10 в пуповинной крови также оказался статистически значимо выше во всех группах наблюдаемых новорожденных детей с ГИЭ по отношению к показателям контрольной группы. Так, в группе новорожденных с 3-степенью ГИЭ уровень ИЛ-10 составил в среднем $41,3 \pm 1,47$ пг/мл, со 2-степенью ГИЭ – $23,3 \pm 0,85$ пг/мл и с 1-степенью ГИЭ – $19,7 \pm 0,53$ пг/мл против $3,2 \pm 0,20$ пг/мл ($P < 0,001$) в группе контроля.

Рандомизированные исследования показали, что снижение показателя медиаторов Th2 типа в течение 3 часов связано с благоприятным исходом [Cerebralin inflammation and mobilization of the peripheral immune system following global

hypoxia-ischemia in preterm sheep [R.K. Jellema]. Апоптоз развивается при ГИЭ в следствие вторичного энергетического дефицита клеток, характеризуется ионным дисбалансом нейронов, сжатием клетки, при этом частично сохраняются клеточные мембраны, также происходит разрыв нейрон-глиальных взаимодействий. и рецепции.

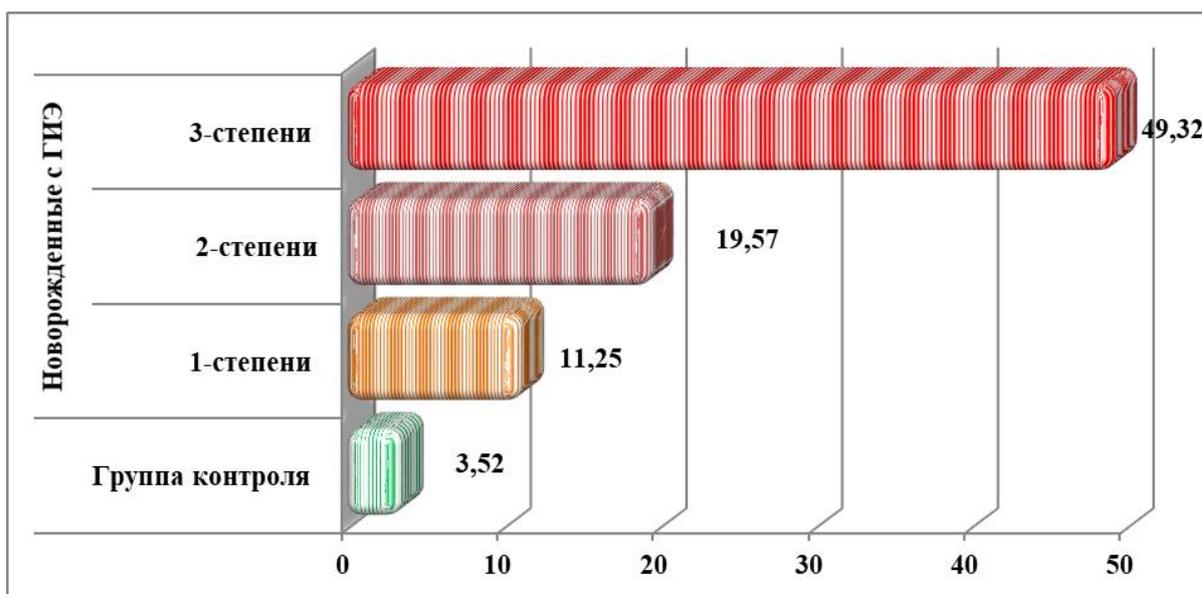


Рис.4.8. Содержание ИЛ-10 в сыворотке венозной крови у обследованных детей, пг/мл

Анализ полученных данных концентрации ИЛ-10 в венозной крови в позднем неонатальном периоде жизни выявил небольшую динамику, которая отображена на Рис.4.8.

Изучение уровня ИЛ-10 показало, что в сыворотке крови здоровых новорожденных он содержится со средним значением $3,52 \pm 1,5$ пг/мл, а у новорожденных с ГИЭ во всех подгруппах имело разнонаправленное значение. Высокое содержание ИЛ-10 по сравнению с первоначальным содержанием в пуповинной крови, было зафиксировано в группе новорожденных с 3-степенью ГИЭ в позднем неонатальном периоде - $49,3 \pm 1,90$ пг/мл ($P < 0,001$), что указывает на тяжесть повреждения ЦНС и на неблагоприятный неврологический исход. В группе

новорожденных со 2-степенью тяжести ГИЭ концентрация ИЛ-10 в позднем неонатальном периоде была снижена почти в 1,2 раза относительно исходных значений при рождении ($19,6 \pm 0,92$ пг/мл) ($P < 0,001$).

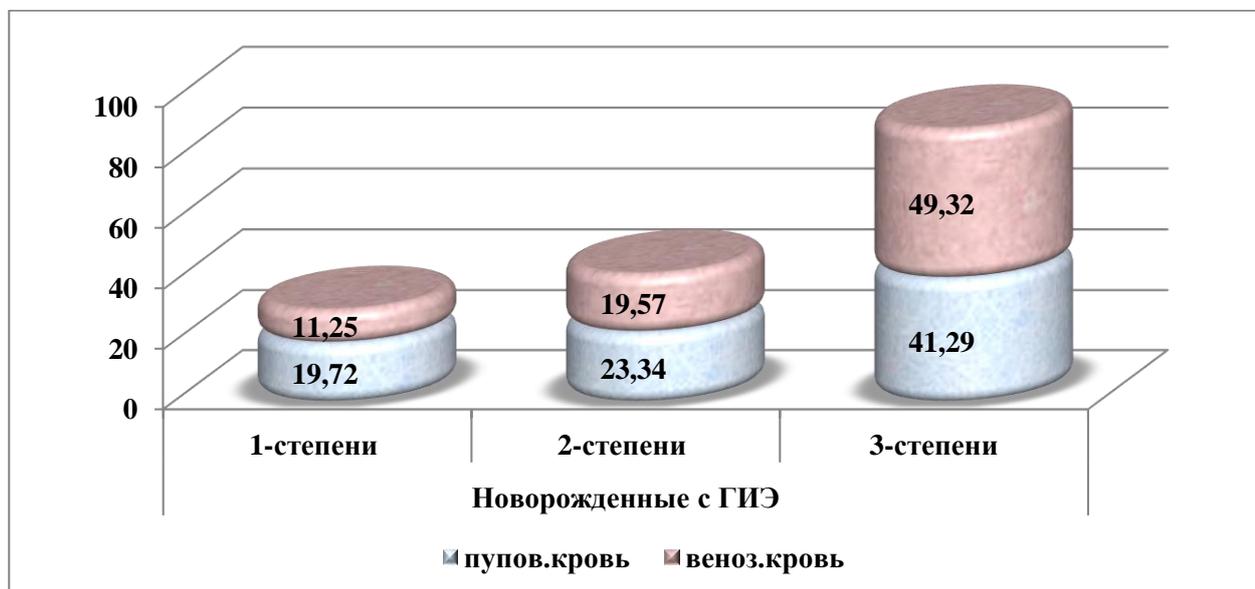


Рис.4.9. Сравнительные показатели ИЛ-10 в группах младенцев с ГИЭ.

Уровень ИЛ-10 в группе новорожденных с 1-степенью ГИЭ также оказался достоверно снижен в 1,7 раз относительно исходных значений и в среднем составил $11,3 \pm 0,60$ пг/мл ($P < 0,001$) (Рис.4.9.).

Согласно литературным данным, выявленное понижение синтеза изученного противовоспалительного цитокина предопределяет благоприятный неврологический исход и скорейшую реабилитацию у новорожденных детей в группах с 1-ой и со 2-ой степенью тяжести ГИЭ.

Нами был проведен анализ коэффициентов соотношения между продукцией провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (табл. 4.3.). Наши исследования показали, что по мере нарастания тяжести заболевания, происходит значительное снижение этих коэффициентов относительно контроля. Так, у детей с легкой

степенью тяжести значение коэффициента ИЛ-1 β /ИЛ-10 уменьшается в 1,5 раза, при средне-тяжелой степени – в 2,3 раза, при тяжелой степени – в 3,3 раза.

Таблица 4.3

Коэффициенты соотношений между концентрациями провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у новорожденных детей при ГИЭ различной степени тяжести

Показатели	Контрольная группа (n=39)	Легкая степень (n=26)	Средняя степень (n=27)	Тяжелая степень (n=36)
ИЛ-1 β /ИЛ-10	60,0	40,1	32,0	18,1
TNF α / ИЛ-10	6,7	3,7	3,1	1,5

Значение коэффициента TNF- α / ИЛ-10 также с увеличением степени тяжести существенно уменьшается при легкой степени – в 1,8 раз, при средне-тяжелой – в 2,1 раз, при тяжелой в 4,5 раз. Полученные данные указывают на выраженный дисбаланс продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у новорожденных детей с ГИЭ, особенно выраженный при средне-тяжелой и тяжелой степени тяжести, что может быть использовано в качестве показателей риска.

Так, снижение соотношения между концентрациями провоспалительных и противовоспалительных цитокинов ИЛ-1 β /ИЛ-10 > 2,3 раза и TNF- α /ИЛ-10 > 2,1 раз, указывают на цитокиновый дисбаланс. Снижение значений коэффициентов ИЛ-1 β /ИЛ-10 > 3,3 раза и TNF- α /ИЛ-10 > 4,5 раза соответственно следует считать критическими. Таким образом, данные коэффициенты могут быть использованы в качестве прогностических критериев ухудшения тяжести состояния ребенка с гипоксически-ишемической энцефалопатией.

Таким образом, полученные данные исследования указывают на важность баланса про- и противовоспалительных цитокинов. В работе установлен дисбаланс цитокинов Th-1- типа с Th-2, что коррелирует с тяжестью ГИЭ и определяет неврологические исходы у новорожденных. Выявленный уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и TNF- α , отражает высокую воспалительную активность. Отмечено, что уменьшение содержания ИЛ-10 у новорожденных с ГИЭ с различной степенью тяжести в позднем неонатальном периоде связано с благоприятным исходом. Полученные результаты являются прогностически значимыми при возникновении перинатального поражения ЦНС на примере ГИЭ у новорожденных детей.

Нами была разработана электронная программа по иммунодиагностике у новорожденных детей узбекской популяции с гипоксически-ишемической энцефалопатией. (Рис.4.10.).

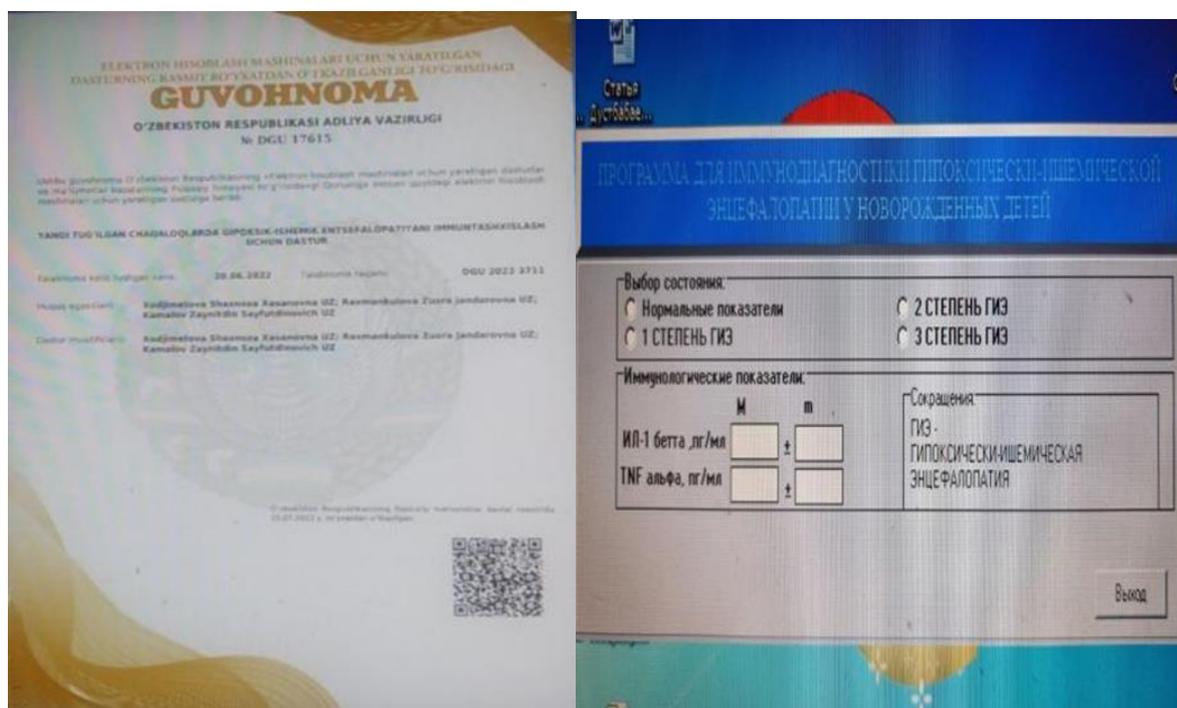


Рис. 4.10. Электронная программа по иммунодиагностике у новорожденных детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией.

В данную программу вводят некоторые иммунологические показатели, а именно провоспалительные цитокины интерлейкин (ИЛ)-1 и фактор некроза опухолей (TNF- α) - и она способна определить по этим данным степени тяжести гипоксическо-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей

Функциональными возможностями программы явилось: оформление карты новорожденных детей, с определением иммунологических показателей при выборе степени энцефалопатии.

Разработанная электронная программа иммунодиагностики степени тяжести ГИЭ может быть использована в дальнейшем в комплексе лечебно-диагностических мероприятий в качестве прогностических критериев развития данной патологии, а также в тактике выбора лечения и предотвращения неблагоприятных исходов у новорожденных детей узбекской национальности.

Данную программу можно широко использовать в медицине, а именно в неонатологии и педиатрии.

ГЛАВА V. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ. АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

§ 5.1. Частота распределения полиморфизма генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у новорождённых детей с гипоксические- ишемической энцефалопатией

Гипоксически –ишемическая энцефалопатия (ГИЭ) чаще развивается на фоне внутриутробной гипоксии, которая сопровождается разнообразным комплексом неврологических синдромов и симптомов.

До настоящего времени изучено множество патогенетических механизмов развития ГИЭ, которые, в результате приводит к гибели нейронов и к отеку головного мозга [63, 91].

В неонатологии ишемическое поражение головного мозга плода и новорожденного является актуальной проблемой, так как приводит к частой заболеваемости и смертности [19, 139]. Как показано целым рядом исследований значимая роль принадлежит провоспалительным и противовоспалительным цитокином. Значительное увеличение содержания интерлейкинов, таких как ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF- α взаимосвязано с тяжестью ишемического повреждения головного мозга [127, 141]. Увеличение уровня ИЛ-1 β у детей с церебральной ишемией играет весьма значимую роль в нейроповреждении [102, 141]. Известно, что ключевым провоспалительным цитокином является TNF- α [141]. Высокое содержание TNF α в микроглии и повышенный уровень в спинномозговой жидкости коррелируют с постгеморрагической вентрикуломегалией и перивентрикулярной лейкомаляцией, которое способствует возникновению дисрегуляции неврологического статуса [148].

Нет сомнения, что в настоящее время продукция цитокинов взаимосвязана и зависит от генов, которые кодируют их активность. В последние годы изучение полиморфизма данных генов с продукцией цитокинов, даст возможность прогнозировать риск развития заболевания, характер и тяжесть ее течения [141]. Как известно, гены интерлейкинов весьма полиморфны, а в одном гене иногда полиморфные участки могут достигать нескольких десятков [141].

Имеющиеся на сегодняшний день данные указывают на взаимосвязь полиморфизма генов с различными патологическими состояниями (в том числе поражение ЦНС) и являются маркерами в диагностике различных заболеваний [117, 149].

Таким образом, изучение вопросов молекулярно – генетических механизмов развития гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей является наиболее актуальным направлением, которое позволит прогнозировать возникновение заболевания до появления его первых клинических симптомов.

В наших исследованиях было проведено генотипирование ИЛ-1 rs16944 в группе у 112 новорожденных детей с ГИЭ и проведен сравнительный анализ полученных результатов по сравнению с контрольной группой.

Как видно из полученных данных (табл.5.1), нами было установлено, что аллель Т у недоношенных новорожденных с ГИЭ встречался значительно чаще (в 1,5 раза) по сравнению с контролем с показателями $OR=1.097$, $95\%CI=1.097 > 1.763 > 2.832$. В свою очередь гомозиготный генотип ТТ ИЛ-1- 511Т/С у детей с ГИЭ встречался в 2,6 раза чаще, чем в контрольной группе, и показал наиболее высокий уровень достоверности, который, согласно показателям ОР, регистрировался как предрасполагающий генотип $OR=2.982$, $95\%CI=1.071 > 2.982 > 8.303$, $\chi^2=4.699$.

Таблица 5.1

**Распределение частот аллелей и генотипов ИЛ-1 -511Т/С
у новорожденных детей с гипоксически-ишемической
энцефалопатией**

Генотип	ГИЭ, n=112	ГИЭ, %	Контроль, n=66	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
С	139	62,05	98	74,24	5.545 (p=0.018533)	0.353 >0.567> 0.912
Т	85	37,95	34	25,76		1.097 >1.763> 2.832
СС	49	43,75	37	56,06	2.52 (p=0.112388)	0.33 >0.61> 1.125
СТ	41	36,61	24	36,36	0.001 (p=1)	0.537 >1.011> 1.901
ТТ	22	19,64	5	7,58	4.699 (p=0.030172)	1.071 >2.982> 8.303

Примечание. χ^2 – показатель достоверности по Пирсону;
OR – относительный риск

Для генотипа СС и СТ у новорожденных детей с ГИЭ относительно контроля истинной значимости не было выявлено, тогда как аллель С достигал истинной значимости, что говорит о том, что при расширении выборки генотип СС, возможно будет достигать истинных значений.

Далее при исследовании распределения аллелей и генотипов ИЛ-10G-1082A (rs1800896) у больных ГИЭ и в контроле не было обнаружено достоверно значимых различий, а все показатели ОР были близки к 1.0 (табл.5.2).

Таблица 5.2

Распределение частот аллелей и генотипов гена ИЛ-10 G-1082 у новорожденных детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией

Генотип	ГИЭ, n=112	ГИЭ, %	Контроль, n=66	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
G	149	66,52	88	66,67	0.001 (p=1)	0.63 >0.993> 1.567
A	75	33,48	44	33,33		0.638 >1.007> 1.588
GG	39	34,82	23	34,85	0 (p=1) *	0.528 >0.999> 1.891
GA	71	63,39	42	63,64	0.001 (p=1)	0.526 >0.99> 1.862
AA	2	1,79	1	1,52	0.018 (p=1)	0.105 >1.182> 13.29

Примечание. χ^2 – показатель достоверности по Пирсону; OR – относительный риск.

При сравнительном изучении распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров гена *TNF- α 308G/A* в группах больных и в контроле (табл. 5.3) установлено статистически значимое увеличение частоты А аллеля у недоношенных новорожденных с ГИЭ, по сравнению с контрольной группой (16,07% и 8,42% соответственно; OR =2.082; 95% CI: 1.116> 2.082> 3.886; $\chi^2=5.478$ (p=0.019253)). В тоже время G аллель исследуемого полиморфизма встречался значительно реже по сравнению с контрольной группой (90,63% и 96,28% соответственно; OR = 0.48; 95% CI: 0.257> 0.48> 0.896; $\chi^2=5.478$ (p=0.019253)).

Таблица 5.3.

**Распределение частот аллелей и генотипов гена *TNF-α* -
308G/A у новорожденных детей с гипоксически-
ишемической энцефалопатией**

Генотип	ГИЭ, n=112	ГИЭ, %	Контроль, n=95	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
G	188	83,93	174	91,58	5.478 (p=0.019253)	0.257 >0.48> 0.896
A	36	16,07	16	8,42		1.116 >2.082> 3.886
GG	76	67,86	79	83,16	6.397 (p=0.011429)	0.219 >0.428> 0.834
GA	36	32,14	16	16,84	6.397 (p=0.011429)	1.199 >2.339> 4.561
AA	0	0,00	0	0,00		

Примечание. χ^2 – показатель достоверности по Пирсону; OR – относительный риск;

Далее при сравнительном анализе генотипов *TNF-α* 308G/A по GG генотипу были выявлены достоверные различия между больными и контрольной группой (67,86% и 83,16% соответственно; OR = 0,428; 95% CI: 0.219> 0.428> 0.834; $\chi^2=6.397$ (p=0.011429)).

При анализе гетерозиготного генотипа GA были выявлены различия между частотой встречаемости у больных и контрольной группой (32,14% и 16,84% соответственно; OR = 2,339; 95% CI: 1.199> 2.339> 4.561; $\chi^2=6.397$ (p=0.011429)).

Как уже было описано выше, была обнаружена достоверная разница в частоте встречаемости аллеля A, исследуемого полиморфизма *TNF-α* 308G/A, но при генотипическом анализе гомозиготного AA генотипа не выявлялось.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что полиморфизм *308(G/A) TNF-α* вносит вклад в предрасположенность к развитию ГИЭ у новорожденных и также, как и ТТ ИЛ-1-511Т/С, является одним из прогностических факторов развития исследуемой патологии.

§ 5.2. Анализ полиморфизмов генов ИЛ-1β, TNF-α, ИЛ-10 у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией в зависимости от степени тяжести

Далее были проведены исследования у 112 новорожденных детей из основной группы с гипоксически-ишемической энцефалопатией в зависимости от тяжести гипоксического поражения ЦНС. Новорожденные дети были разделены на 3 группы: 1-группа (n-31 – новорожденные с ГИЭ 1-й степени (легкой)); 2-группа (n-37) – новорожденные с ГИЭ 2-й степени (средней тяжести); 3-группа (n-44) – новорожденные с ГИЭ 3-й степени (тяжелой).

Было проведено генотипирование ИЛ-1 rs16944 в группе у 31 ребенка 1-группы (n-31) – новорожденные с ГИЭ 1-й степени (легкой) и проведен сравнительный анализ полученных результатов по сравнению с контрольной группой.

В таблице 5.4. показаны результаты распределения аллелей и генотипов. Как видно из данных таблицы, частота встречаемости аллеля С и генотипа СС у новорожденных детей с ГИЭ легкой степени была несколько меньше (соответственно 66,13% и 45,16%), чем в контрольной группе (74,24% и 56,06%).

Частота же встречаемости аллеля Т и генотипов СТ и ТТ (33,87%, 41,94% и 12,90%) у детей с ГИЭ легкой степени была несколько больше, чем в контрольной группе (25,76%, 36,36% и 7,58%).

Таблица 5.4.
Распределение частот аллелей и генотипов ИЛ-1 -511Т/С
у новорожденных детей с ГИЭ 1-й степени

Генотип	ГИЭ, n=31	ГИЭ, %	Контроль, n=66	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
С	41	66,13	98	74,24	1.367 (p=0.242314)	0.352 >0.677> 1.304
Т	21	33,87	34	25,76		0.767 >1.476> 2.842
СС	14	45,16	37	56,06	1.005 (p=0.316114)	0.274 >0.645> 1.523
СТ	13	41,94	24	36,36	0.278 (p=0.598319)	0.528 >1.264> 3.023
ТТ	4	12,90	5	7,58	0.711 (p=0.399045)	0.45 >1.807> 7.261

Примечание. χ^2 – показатель достоверности по Пирсону; OR – относительный риск.

Нами было выявлено, что достоверных различий в распределении аллелей и генотипов не наблюдалось, также не было и тенденции к значимости.

Далее при сравнительном исследовании распределения аллели и генотипов ИЛ-10G-1082A (rs1800896) у больных в группе новорожденных с церебральной ишемией 1-й степени и в контроле не было выявлено достоверно значимых различий (табл 5.5).

Таблица 5.5.
Распределение частот аллелей и генотипов гена ИЛ-10 G-
1082A у новорожденных детей с ГИЭ 1-й степени

Генотип	ГИЭ, n=31	ГИЭ, %	Контроль, n=66	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
G	46	74,19	88	66,67	1.119 (p=0.290183)	0.732 >1.438> 2.821

A	16	25,81	44	33,33		0.354 >0.696> 1.365
GG	16	51,61	23	34,85	2.466 (p=0.116347)	0.838 >1.994> 4.748
GA	14	45,16	42	63,64	2.95 (p=0.085857)	0.198 >0.471> 1.12
AA	1	3,23	1	1,52	0.306 (p=0.58035)	0.131 >2.167> 35.822

Примечание. χ^2 - показатель достоверности по Пирсону; OR – относительный риск;

Несмотря на то, что генотип AA ИЛ-10G-1082A (rs1800896) имел показатель OR=2,167, истинной значимости данный генотип не достигал.

При сравнительном изучении распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров гена *TNF- α* - 308G/A в группе новорожденных с ГИЭ 1-й степени и в контроле (табл. 5.6.) также не установлено статистически значимого увеличения частоты встречаемости, по сравнению с контрольной группой.

Однако при этом, аллель G и генотип GG у новорожденных детей с ГИЭ легкой степени встречались несколько реже (88,71% и 77,42%), чем в контрольной группе (91,58% и 83,16%). Генотип GA у детей с ГИЭ легкой степени встречался несколько чаще (22,58%), чем в контрольной группе (16,84%).

Таблица 5.6.

Распределение частот аллелей и генотипов гена TNF- α - 308G/A у новорожденных с ГИЭ 1-й степени (легкой)

Генотип	ГИЭ, n=31	ГИЭ, %	Контроль, n=95	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
G	55	88,71	174	91,58	0.464 (p=0.495757)	0.283 >0.722> 1.847
A	7	11,29	16	8,42		0.541 >1.384> 3.538
G	24	77,42	79	83,16	0.516 (p=0.472633)	0.256 >0.694> 1.885
GA	7	22,58	16	16,84	0.516 (p=0.472633)	0.53 >1.44> 3.91
AA		0,00	0	0,00		

Примечание. χ^2 – показатель достоверности по Пирсону;
OR – относительный риск.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что аллельные варианты и генотипы полиморфизмов ИЛ-1 rs16944, ИЛ-10G-1082Ars 1800896, TNF- α 308(G/A) rs1800629 не вносят вклад в предрасположенность к развитию патологии в группе новорожденных с церебральной ишемией 1-й степени у новорожденных детей.

На следующем этапе нашего исследования было проведено генотипирование ИЛ-1 rs16944 в группе у 37 новорожденных с ГИЭ 2-й степени (средней тяжести) и проведен сравнительный анализ полученных результатов по сравнению с контрольной группой. (табл. 5.7.)

Таблица 5.7.

Распределение частот аллелей и генотипов гена ИЛ-1 - 511Т/С у новорожденных детей с ГИЭ 2-й степени (средней тяжести)

Генотип	ГИЭ, n=37	ГИЭ, %	Контроль, n=66	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
С	49	66,22	98	74,24	1.495 (p=0.221504)	0.366 >0.68> 1.264
Т	25	33,78	34	25,76		0.791 >1.471> 2.733
СС	17	45,95	37	56,06	0.973 (p=0.324054)	0.297 >0.666> 1.496
СТ	15	40,54	24	36,36	0.176 (p=0.674998)	0.522 >1.193> 2.725
ТТ	5	13,51	5	7,58	0.954 (p=0.328817)	0.514 >1.906> 7.074

Примечание. χ^2 – показатель достоверности по Пирсону;
OR – относительный риск.

В данной таблице показаны результаты распределения аллелей и генотипов ИЛ-1 rs16944 в исследуемой группе. Как видно из данных таблицы, нами было установлено, что значимых различий в распределении аллелей и генотипов выявлено не было, также не было и тенденции к значимости, как и в группе новорожденных с ГИЭ 1-й степени.

Таблица 5.8.

Распределение частот аллелей и генотипов гена ИЛ-10 G-1082A у новорожденных детей с ГИЭ 2-й степени (средней тяжести)

Генотип	ГИЭ, n=37	ГИЭ, %	Контроль, n=66	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
G	51	68,92	88	66,67	0.11 (p=0.740598)	0.602 >1.109< 2.042
A	23	31,08	44	33,33		0.49 >0.902< 1.662
GG	15	40,54	23	34,85	0.33 (p=0.565699)	0.556 >1.275< 2.92
GA	21	56,76	42	63,64	0.472 (p=0.491885)	0.33 >0.75< 1.705
AA	1	2,70	1	1,52	0.176 (p=0.675178)	0.11 >1.806< 29.738

Примечание. χ^2 - показатель достоверности по Пирсону; OR – относительный риск.

Далее при исследовании распределения аллелей и генотипов ИЛ-10G-1082A (rs1800896) в группе у 37 новорожденных с ГИЭ 2-й степени (средней тяжести) и в контроле не было обнаружено достоверно значимых различий (табл.5.8.), как и в группе с церебральной ишемией 1-й степени.

Таблица 5.9.

Распределение частот аллелей и генотипов гена TNF α 308G/A у новорожденных детей с ГИЭ 2-й степени (средней тяжести)

Генотип	ГИЭ, n=37	ГИЭ, %	Контроль, n=95	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
G	55	74,32	174	91,58	0.464 (p=0.495757)	0.283 >0.722< 1.847
A	7	9,46	16	8,42		0.541 >1.384< 3.538
GG	24	64,86	79	83,16	0.516 (p=0.472633)	0.256 >0.694< 1.885
GA	7	18,92	16	16,84	0.516 (p=0.472633)	0.53 >1.44< 3.91
AA		0,00	0	0,00		

Примечание. χ^2 – показатель достоверности по Пирсону; OR – относительный риск;

При сравнительном изучении распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров гена TNF- α - 308G/A в группах в группе у 37 новорожденных с церебральной ишемией 2-й степени (средней тяжести) и в контроле также не установлено статистически значимого увеличения частоты встречаемости, по сравнению с контрольной группой (табл. 5.9.).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что аллельные варианты и генотипы полиморфизмов ИЛ-1 rs16944, TNF- α 308(G/A) rs1800629 не вносят вклад в предрасположенность к развитию патологии в группе у 37 новорожденных с ГИЭ 2-й степени (средней

тяжести), тогда как полиморфизм гена ИЛ-10G-1082Ars1800896 несет как протективный, так и предрасполагающий вклад в развитие данной патологии.

Следующим этапом генетического исследования было проведение генотипирования ИЛ-1 rs16944 в группе (n=44) новорожденных с ГИЭ 3-й степени (тяжелой). В таблице 5.10. показаны результаты генотипирования в данной выборке

Таблица 5.10.
Распределение частот аллелей и генотипов ИЛ-1 -511Т/С у новорожденных с детей с ГИЭ 3-й степени (тяжелой)

Генотип	ГИЭ, n=44	ГИЭ, %	Контроль, n=66	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
С	49	55,68	98	74,24	8.204 (p=0.00418)	0.246 >0.436< 0.774
Т	39	44,32	34	25,76		1.293 >2.294< 4.071
СС	18	40,91	37	56,06	2.424 (p=0.119471)	0.25 >0.543< 1.175
СТ	13	29,55	24	36,36	0.55 (p=0.458401)	0.324 >0.734< 1.665
ТТ	13	29,55	5	7,58	9.311 (p=0.002278)	1.672 >5.116< 15.654

Примечание. χ^2 – показатель достоверности по Пирсону; OR – относительный риск.

Как видно из данных таблицы, нами было установлено, что аллель Т встречался в 44,32% в группе больных по сравнению с 25,76% в контрольной группе с показателями OR=2,294, OR (95% CI): 1.293> 2.294< 4.071 и $\chi^2=8.204$ (p=0.00418). Гомозиготный генотип ТТ ИЛ-1- 511Т/С показал

наиболее высокий уровень достоверности, который, согласно показателям, $OR=5,116$, регистрировался как предрасполагающий генотип с наивысшим значением, OR (95% CI): $1.672 > 5.116 > 15.654$ и с высоким уровнем достоверности $\chi^2=9.311$ ($p=0.002278$). Как и в общей группе, для генотипа CC и CT истинной значимости не было выявлено, тогда как аллель C достигал истинной значимости, это говорит о том, что при расширении выборки генотип CC , возможно будет достигать истинных значений.

При исследовании распределения аллелей и генотипов ИЛ-10G-1082A (rs1800896) в группе ($n=44$) новорожденных с ГИЭ 3-й степени (тяжелой) и в контроле (табл. 5.11.) были выявлены достоверно значимые различия в частоте встречаемости генотипа GG , который встречался в 18.18% в группе больных и в 34.85% в контроле, с показателями OR (95% CI): $0.162 > 0.406 > 1.018$ и $\chi^2 \geq 3.815$ ($p=0.050785$).

Таблица 5.11.

Распределение частот аллелей и генотипов гена ИЛ-10 G-1082A у новорожденных детей с ГИЭ 3-й степени (тяжелой)

Генотип	ГИЭ, n=44	ГИЭ, %	Контроль, n=66	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
G	52	59,09	88	66,67	1.31 ($p=0.252481$)	0.413 >0.722> 1.262
A	36	40,91	44	33,33		0.792 >1.385> 2.42
GG	8	18,18	23	34,85	3.815 ($p=0.050785$)	0.162 >0.406> 1.018
GA	36	81,82	42	63,64	4.231 ($p=0.039697$)	1.029 >2.571> 6.424
AA	0	0,00	1	1,52		

Примечание. χ^2 – показатель достоверности по Пирсону;
OR – относительный риск.

В свою очередь, генотип GA значительно чаще встречался в группе больных по сравнению с контролем с показателями OR (95% CI): 1.029 > 2.571 > 6.424 и $\chi^2 \geq 4.231$ ($p=0.039697$), что явилось маркером предрасположенности.

При сравнительном изучении распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров гена *TNF- α* - 308G/A в группе (n=44) новорожденных с ГИЭ 3-й степени (тяжелой) и в контроле (табл.5.12.) установлено статистически значимое увеличение частоты А аллеля у больных с ГИЭ, по сравнению с контрольной группой (19,32% и 8,42% соответственно; OR =2,604; 95% CI: 1.247 > 2.604 > 5.438; $\chi^2=6.827$ ($p=0.008979$)).

Таблица 5.12.

Распределение частот аллелей и генотипов гена *TNF- α* - 308G/A у новорожденных с детей с ГИЭ 3-й степени (тяжелой)

Генотип	ГИЭ, n=44	ГИЭ, %	Контроль, n=95	Контроль, %	χ^2	OR (95% CI)
G	71	80,68	174	91,58	6.827 ($p=0.008979$)	0.184 >0.384< 0.802
A	17	19,32	16	8,42		1.247 >2.604< 5.438
GG	27	61,36	79	83,16	7.89 ($p=0.004972$)	0.143 >0.322< 0.723
GA	17	38,64	16	16,84	7.89 ($p=0.004972$)	1.382 >3.109< 6.992
AA	0	0,00	0	0,00		

Примечание. χ^2 – показатель достоверности по Пирсону; OR – относительный риск.

Тогда как G аллель исследуемого полиморфизма встречался значительно реже по сравнению с контрольной группой и нёс собой явное протективное значение (80,68% и 91,58% соответственно; OR = 0,384; 95% CI: 0.184 > 0.384 > 0.802; $\chi^2=6.827$ (p=0.008979)).

Далее при сравнительном анализе генотипов *TNF- α* - 308G/A по GG генотипу были выявлены достоверные различия между больными и контрольной группой (61,36% и 83,16% соответственно; OR = 0,322; 95% CI: 0.143 > 0.322 > 0.723; $\chi^2=7.89$ (p=0.004972)). При анализе гетерозиготного генотипа GA были выявлены различия, как и в общей группе обследуемых лиц, между частотой встречаемости у больных и контрольной группой (38,64% и 16,84% соответственно; OR = 3,109; 95% CI: 1.382 > 3.109 > 6.992; $\chi^2=7.89$ (p=0.004972)).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что полиморфизм ИЛ-1-511Т/СТ и Т/Т играют значимую роль в развитии церебральной ишемией 3-й степени (тяжелой) у новорожденных (табл. 5.13).

При исследовании распределения аллелей и генотипов ИЛ-10G-1082A (rs1800896) в группе у 44 новорожденных с ГИЭ 3-й степени и в контроле было выявлено, что генотип GA значительно чаще встречался в группе больных по сравнению с контролем с показателями OR (95% CI): 1.029 > 2.571 > 6.424 и $\chi^2 \geq 4.231$ (p=0.039697), что явилось маркером предрасположенности.

Полученные данные говорят о несомненной роли и вовлечённости исследуемых полиморфизмов в развитие патологии ГИЭ и имеют определенные особенности в характере распределения в зависимости от тяжести течения патологического процесса.

Таблица 5.13.

**Сравнительная характеристика генетических маркеров
предрасположенности и резистентности у
новорожденных детей с ГИЭ в зависимости от степени
тяжести**

	Общая Группа, n=112		1-группа (n-31) с ГИЭ 1- й степени (легкой)		2-группа (n- 37) с ГИЭ 2-й степени (средней тяжести)		3-группа (n-44) – с ГИЭ 3-й степени (тяжелой)	
	Марк еры пред расп олож енно сти	Марке ры резис тентн ости	Марке ры предр аспол оженн ости	Марке ры резис тентн ости	Марк еры пред расп олож енно сти	Маркер ы резист ентнос ти	Маркер ы предра сполож енност и	Маркер ы резист ентнос ти
ИЛ-1 - 511T/C	T, T/T	C	-	-	-	-	T, T/T	C
TNF-α 308G/A	A, G/A	G, G/G	-	-	-	-	A, G/A	G, G/G
ИЛ-10- 1082 G/A	-	-	-	-	-	-	G/ A	G/ G

Важной и актуальной задачей на сегодняшней день является изучение генов, контролирующих активность цитокинов. Эти исследования позволят понять глубже основы патогенеза ГИЭ, определить на ранних сроках её предрасположенность, что даст возможность диагностировать риск развития заболевания или её тяжесть течения, а также подобрать индивидуальное лечения для новорожденных детей.

Таким образом, исследования молекулярно-генетических механизмов возникновения гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей является весьма немаловажным и актуальным, а также следует учесть, что качество распределения аллелей и генотипов имеет свои особенности в каждой популяции, а

цитокины в свою очередь способствуют нейроповреждению. Наши исследования по распределению частоты аллелей и генотипов и их генетического полиморфизма дают возможность прогнозировать и заблаговременно оценить возникновение заболевания до появления первых клинических симптомов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы проблема ишемического поражения головного мозга у новорожденных остается актуальной во всех странах мира. В настоящее время, несмотря на достижения в области диагностики и лечения гипоксически-ишемической энцефалопатии и проведения организационных и лечебных мероприятий, ее встречаемость остается на высоком уровне. Следует отметить, что ишемическое поражение головного мозга приводит к высокой смертности, к развитию в раннем детском возрасте, дисфункции головного мозга, детского церебрального паралича, эпилепсии, что обуславливает необходимость ранней диагностики, прогнозирования последствий, разработку лечебных мероприятий и их внедрение в практическую медицину.

До настоящего времени изучено множество патогенетических механизмов развития гипоксических повреждений головного мозга, которые в конечном счете приводят к отеку и гибели нейронов головного мозга. Не подлежит сомнению, что иммунная система играет ведущую роль в патогенезе, клиническом течении и исходе гипоксических и инфекционных заболеваний у новорождённых детей. Значимая роль в патогенезе гипоксии отводится про- и противовоспалительным интерлейкинам, высвобождаемым в ЦНС микроглией.

На сегодняшний день известно, что продукция цитокинов напрямую зависит от генов, кодирующих их активность [69,102]. Изучение взаимосвязи полиморфизма данных генов с продукцией цитокинов даст возможность прогнозировать риск развития патологии, характер и тяжесть ее течения.

Целью нашего исследования явилось изучить клинико-иммунологические и молекулярно-генетические аспекты развития гипоксически-ишемической энцефалопатии (ГИЭ) у новорожденных. Обследовано 215 матерей и их

новорожденные, из них в основную группу были включены 120 недоношенных новорожденных детей с основным клиническим диагнозом «энцефалопатия новорожденных гипоксически-ишемического генеза» (МКБ-10: Р 91.0). В работе использована классификация Н.В. Sarnat и М.С. Sarnat, 1976. В зависимости от тяжести гипоксического поражения ЦНС новорожденные были разделены на 3 группы: 1-группа (n-39) – новорожденные с ГИЭ 1-й степени (легкой); 2-группа (n-37) – новорожденные с ГИЭ 2-й степени (средней тяжести); 3-группа (n-44) – новорожденные с ГИЭ 3-й степени (тяжелой). Группу контроля составили 95 практически здоровых новорожденных ребенка, родившихся от матерей с благополучно протекавшей беременностью, с нормальной оценкой по шкале Апгар при рождении, не имевшие внутриутробную гипоксию, с физиологическим течением раннего периода адаптации.

Проведены общие клинические, инструментальные, иммунологические, молекулярно-генетическое и статистические методы исследования.

Выявлено, что наибольшее значение для формирования ГИЭ 1 степени имели такие факторы риска, как эклампсия (ОШ=8,3; 95% ДИ 3,0; 26,1; $P<0,001$), угроза прерывания беременности (ОШ=8,0; 95% ДИ 2,3; 24,0; $P<0,001$), ФПН (ОШ=7,0; 95% ДИ 2,2; 21,1; $P<0,001$), маловодие (ОШ=5,0; 95% ДИ 1,2; 18,0; $P<0,01$), а среди заболеваний матери имели ОРВИ (ОШ=5,0; 95% ДИ 1,0; 4,1; $P<0,001$). Для формирования ГИЭ 2 степени тяжести все проанализированные 18 факторов риска были достоверными, причем 12 из них имели высокую степень достоверности ($P<0,001$). Наибольший риск развития оказывали такие факторы, как эклампсия, (ОШ=20,3; 95% ДИ 5,9; 69,6; $P<0,001$), угроза прерывания беременности и ФПН (ОШ=17,1; 95% ДИ 5,2; 58,4; $P<0,001$), преждевременная отслойка плаценты (ОШ=14,5; 95% ДИ 1,8; 12,0; $P<0,001$), обвитие пуповины (ОШ=10,2; 95% ДИ 2,1; 49,3; $P<0,001$). Среди перенесенных заболеваний матери анемия (ОШ=9,0; 95% ДИ 2,6; 3,1; $P<0,001$), ОРВИ (ОШ=8,3; 95% ДИ 2,8; 24,3; $P<0,001$),

TORCH-инфекции (ОШ=8,3; 95% ДИ 1,7;40,9; P<0,001) COVID-19 (ОШ=18,6; 95% ДИ 2,3; 152,7; P<0,001). В развитии ГИЭ 3 степени из 18 факторов 16 имели высокую степень достоверности. Наиболее значимыми явились угроза прерывания беременности (ОШ=61,9; 95% ДИ 13,5;28,2; P<0,001), эклампсия и ФПН (ОШ=44,9; 95% ДИ 10,9;183,9; P<0,001), преждевременная отслойка плаценты (ОШ=19,5; 95% ДИ 2,3; 159,9; P<0,001), загрязненные и мутные околоплодные воды (ОШ=16,3; 95% ДИ 4,6; 57,7; P<0,001), маловодие (ОШ=15,5; 95% ДИ 3,9;60,7;P<0,001) и обвитие пуповины(ОШ=13,5; 95% ДИ 2,7;65,1;P<0,001). Среди перенесенных заболеваний матери были анемия (ОШ=38,2; 95% ДИ 4,7; 312,0; P<0,001), COVID-19 (ОШ=13,9; 95% ДИ 3,4;216,4; P<0,001), TORCH-инфекции (ОШ=16,9; 95% ДИ 3,5;81,8; P<0,001), гинекологические заболевания (ОШ=15,1; 95% ДИ 1,8;125,2; P<0,001). Вместе с тем, нами было выявлено, что практически у всех женщин, имело место одновременное сочетание сразу нескольких факторов особенно при ГИЭ 3-й степени -97,1%. Выявленные прогностически значимые факторы риска у новорожденных, родившихся с ГИЭ, позволят проводить целенаправленные лечебно-профилактические мероприятия.

Нами была проанализирована частота встречаемости неврологических синдромов у наблюдавшихся новорожденных детей в зависимости от степени тяжести ГИЭ. Исследования показали, что в остром периоде у всех детей преобладал синдром общего угнетения: при легкой степени ГИЭ - у 53,0±8,0% детей, при средней степени тяжести - у 75,0±7,2%, а при тяжелой - у 94,3±3,9% новорожденных. Синдром повышенной нейро-рефлекторной возбудимости при ГИЭ легкой степени - 12,8±5,3% новорожденных, при среднетяжелой степени у 22,2±6,9%, а при тяжелой степени у трети детей - 31,4±7,9%. Судорожный синдром с наибольшей частотой, наблюдался у детей с тяжелой степенью ГИЭ 25,7±7,4%. Гипертензионно-гидроцефальный синдром у детей с тяжелой степенью ГИЭ отмечался у 1/5 части детей

(20,0±6,8%). Для значительной части больных во всех группах, особенно при тяжелой степени (88,6±5,3%), было характерно наличие сочетанных синдромов. Среди структурных поражений у новорожденных детей с ГИЭ 1 степени в 15,9±5,8% случаев были выявлены мелкие псевдокисты сосудистого сплетения, что встречалось в 2,3 раза чаще, чем у детей со среднетяжелой ГИЭ, а у новорожденных третьей группы таких изменений не было обнаружено. ВЖК I степени встречались у детей с ГИЭ при среднетяжелой степени в 11,1±5,2% случаях. При тяжелой степени у 8,6±4,7% новорожденных детей были выявлены ВЖК II степени и у 17,1±6,4% ВЖК III степени, у 14,3±8,3% ПВЛ, у 40,0±8,3% отек головного мозга, у 20,0±6,8% вентрикуломегалия.

В динамике на 14-15 дни жизни в 1-й группе у подавляющего большинства детей на НСГ отмечено улучшение - 71,8±7,2%, во 2-й группе - у половины детей - 50,0±8,3%, в 3-й группе - у трети детей - 31,4±7,8%, а к концу 1 месяца жизни - у 45,7±8,4% детей.

Таким образом, оценка структурных изменений головного мозга по данным нейросонографии, у новорожденных детей с ГИЭ в зависимости от степени тяжести, в раннем неонатальном периоде и в динамике, в позднем неонатальном периоде, показала более выраженные поражения ЦНС по мере увеличения степени тяжести. Для уточнения характера поражения мозга требуется наблюдение в динамике за наиболее неблагоприятными нейросонографическими признаками, к которым относится продолжение расширения желудочковой системы мозга.

В ходе работы были проведены у 105 новорожденных детей иммунологические исследования, из них 75 детей были из основной группы с ГИЭ и 30 детей из группы контроля. Сравнительный анализ содержания ИЛ-1β показал, что в зависимости от степени тяжести переносимой ГИЭ его концентрация увеличивается, т.е. прослеживается определенная закономерность. Уровень ИЛ-1β в сыворотке венозной крови в раннем неонатальном периоде был

достоверно выше контроля, также как в исследовании пуповинной крови во всех наблюдаемых группах, в особенности в группе новорожденных с 3-степенью ГИЭ, что в среднем составило $892,4 \pm 21,63$ пг/мл, в группе со 2-степенью ГИЭ - $628,3 \pm 18,48$ пг/мл, в группе с 1-степенью ГИЭ - $453,4 \pm 8,64$ пг/мл, тогда как в контрольной группе концентрация данного цитокина составила $211,2 \pm 5,66$ пг/мл.

При изучении уровня синтеза TNF- α в пуповинной крови было выявлено, что уровень данного медиатора был достоверно повышен у новорожденных детей с ГИЭ во всех группах, причем у детей с 3-степенью ГИЭ он был в 3,4 раза выше значений контрольной группы ($72,8 \pm 2,76$ пг/мл против $21,1 \pm 0,63$ пг/мл в контроле, $P < 0,001$), у новорожденных со 2-степенью ГИЭ - в 2,7 раза выше данных контрольной группы ($57,6 \pm 0,72$ пг/мл против $21,1 \pm 0,63$ пг/мл в контроле, $P < 0,001$), у детей с 1- степенью почти в 1,9 раз выше показателей контрольной группы ($39,7 \pm 1,69$ пг/мл против $21,1 \pm 0,63$ пг/мл, $P < 0,001$). Анализ данных TNF- α в венозной крови в раннем неонатальном периоде показал такую же динамику,

Анализ содержания концентрации противовоспалительного цитокина ИЛ-10 сыворотке крови у новорожденных детей с ГИЭ в зависимости от степени тяжести в венозной крови в раннем неонатальном периоде жизни выявил небольшую динамику. Высокое содержание ИЛ-10 по сравнению с первоначальным содержанием в пуповинной крови, было зафиксировано в группе новорожденных с 3-степенью ГИЭ в раннем неонатальном периоде - $49,3 \pm 1,90$ пг/мл ($P < 0,001$), что указывает на тяжесть повреждения ЦНС и на неблагоприятный неврологический исход. В группе новорожденных со 2-й степенью тяжести ГИЭ ИЛ-10 был снижен в 1,2 раза относительно исходных значений при рождении ($19,6 \pm 0,92$ пг/мл) ($P < 0,001$), а с 1-степенью ГИЭ также оказался достоверно снижен в 1,7 раз относительно исходных значений ($11,3 \pm 0,60$ пг/мл) ($P < 0,001$).

Анализ коэффициентов соотношения между продукцией про- и противовоспалительных цитокинов, показал, что по

мере нарастания тяжести заболевания, происходит значительное снижение этих коэффициентов относительно контроля. Полученные данные указывают на выраженный дисбаланс продукции про- и противовоспалительных цитокинов у новорожденных детей с ГИЭ, особенно выраженный при среднетяжелой и тяжелой степени тяжести, что может быть использовано в качестве показателей риска. Так, снижение соотношения между концентрациями провоспалительных и противовоспалительных цитокинов ИЛ-1 β /ИЛ-10 > 1,9 раза и TNF- α /ИЛ-10 > 2,1 раз, указывают на цитокиновый дисбаланс. Снижение значений коэффициентов ИЛ-1 β /ИЛ-10 > 3,3 раза и TNF- α /ИЛ-10 > 4,5 раза соответственно следует считать критическими. Данные коэффициенты могут быть использованы в качестве прогностических критериев ухудшения состояния ребенка с ГИЭ.

Выявленный уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и TNF- α , отражает высокую воспалительную активность. Отмечено, что уменьшение содержания ИЛ-10 у новорожденных с ГИЭ с различной степенью тяжести в позднем неонатальном периоде связано с благоприятным исходом. Полученные результаты являются прогностически значимыми при возникновении перинатального поражения ЦНС на примере ГИЭ у новорожденных детей.

Было проведено генотипирование ИЛ-1 rs16944 у 31 ребенка 1-группы. Частота встречаемости аллеля С и генотипа СС у новорожденных детей с ГИЭ легкой степени была несколько меньше (соответственно 66,13% и 45,16%), чем в контрольной группе (74,24% и 56,06%). Частота же встречаемости аллеля Т и генотипов СТ и ТТ (33,87%, 41,94% и 12,90%) у детей с ГИЭ легкой степени была несколько больше, чем в контрольной группе (25,76%, 36,36% и 7,58%). Однако, значимых различий в распределении аллелей и генотипов выявлено не было, также не было и тенденции к значимости.

Далее при сравнительном исследовании распределения аллелей и генотипов ИЛ-10G-1082A (rs1800896) у больных в группе новорожденных детей с ГИЭ 1-й степени и в контроле не было обнаружено достоверно значимых различий, а все показатели ОР были близки к 1.0. Несмотря на то, что генотип AA ИЛ-10G-1082A (rs1800896) имел показатель OR=2,167, истинной значимости данный генотип не достигал.

При сравнительном изучении распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров гена TNF- α -308G/A в группе новорожденных с ГИЭ 1-й степени и в контроле также не установлено статистически значимого увеличения частоты встречаемости, по сравнению с контрольной группой. Однако, аллель G и генотип GG у новорожденных детей с ГИЭ легкой степени встречались несколько реже (88,71% и 77,42%), чем в контрольной группе (91,58% и 83,16%). Генотип GA у детей с ГИЭ легкой степени встречался несколько чаще (22,58%), чем в контрольной группе (16,84%).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что аллельные варианты и генотипы полиморфизмов ИЛ-1 rs16944, ИЛ-10G-1082 A rs1800896, -308(G/A) TNF- α rs1800629 не вносят вклад в предрасположенность к развитию патологии в группе новорожденных с ГИЭ 1-й степени у новорожденных детей.

На следующем этапе нашего исследования было проведено генотипирование ИЛ-1 rs16944 в группе у 37 новорожденных с ГИЭ 2-й степени (средней тяжести) и проведен сравнительный анализ полученных результатов по сравнению с контрольной группой. Полученные данные показали, что значимых различий в распределении аллелей и генотипов выявлено не было, также не было и тенденции к значимости, как и в группе новорожденных детей с ГИЭ 1-й степени.

Далее при исследовании распределения аллелей и генотипов ИЛ-10G-1082A (rs1800896) в группе у 37 новорожденных с ГИЭ 2-й степени (средней тяжести) и в

контроле не было обнаружено достоверно значимых различий, как и в группе с ГИЭ 1-й степени.

При сравнительном изучении распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров гена TNF- α -308G/A в группах в группе у 37 новорожденных с церебральной ишемией 2-й степени (средней тяжести) и в контроле также не установлено статистически значимого увеличения частоты встречаемости, по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что аллельные варианты и генотипы полиморфизмов ИЛ-1 rs16944, -308(G/A) TNF- α rs1800629 не вносят вклад в предрасположенность к развитию патологии в группе у 37 новорожденных детей с ГИЭ 2-й степени (средней тяжести), тогда как полиморфизм гена ИЛ-10 G-1082A rs1800896 нес как протективный, так и предрасполагающий вклад в развитие данной патологии.

Следующим этапом генетического исследования было проведение генотипирования ИЛ-1 rs16944 в группе (n=44) новорожденных детей с ГИЭ 3-й степени (тяжелой). Нами было установлено, что аллель Т встречался в 44,32% в группе больных по сравнению с 25,76% в контрольной группе с показателями OR=2,294, OR (95% CI): 1.293 > 2.294 > 4.071 и $\chi^2=8.204$ (p=0.00418).

Гомозиготный генотип ТТ ИЛ-1- 511Т/С показал наиболее высокий уровень достоверности, который, согласно показателям OR=5,116, регистрировался как предрасполагающий генотип с наивысшим значением, OR (95% CI): 1.672 > 5.116 > 15.654 и с высоким уровнем достоверности $\chi^2=9.311$ (p=0.002278). Для генотипа СС и СТ истинной значимости не было выявлено, тогда как аллель С достигал истинной значимости, это говорит о том, что при расширении выборки генотип СС, возможно будет достигать истинных значений.

При исследовании распределения аллелей и генотипов ИЛ-10G-1082A (rs1800896) у новорожденных с ГИЭ 3-й

степени (тяжелой) и в контроле были выявлены достоверно значимые различия. В частоте встречаемости генотипа GG, который встречался в 18.18% в группе больных и в 34.85% в популяционном контроле, с показателями OR (95% CI): $0.162 > 0.406 > 1.018$ и $\chi^2 \geq 3.815$ ($p=0.050785$). В свою очередь, генотип GA значительно чаще встречался в группе больных по сравнению с контролем с показателями OR (95% CI): $1.029 > 2.571 > 6.424$ и $\chi^2 \geq 4.231$ ($p=0.039697$), что явилось маркером предрасположенности.

При сравнительном изучении распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров гена TNF- α - 308G/A у новорожденных детей с ГИЭ 3-й степени (тяжелой) и в контроле установлено статистически значимое увеличение частоты А аллеля по сравнению с контрольной группой (19,32% и 8,42% соответственно; OR = 2,604; 95% CI: $1.247 > 2.604 > 5.438$; $\chi^2=6.827$ ($p=0.008979$)). Тогда как G аллель исследуемого полиморфизма встречался значительно реже по сравнению с контрольной группой и нес собой явное протективное значение (80,68% и 91,58% соответственно; OR = 0,384; 95% CI: $0.184 > 0.384 > 0.802$; $\chi^2=6.827$ ($p=0.008979$)).

Далее при сравнительном анализе генотипов TNF- α 308G/A по GG генотипу были выявлены достоверные различия между больными и контрольной группой (61,36% и 83,16% соответственно; OR = 0,322; 95% CI: $0.143 > 0.322 > 0.723$; $\chi^2=7.89$ ($p=0.004972$)). При анализе гетерозиготного генотипа GA были выявлены различия между частотой встречаемости у больных и контрольной группой (38,64% и 16,84% соответственно; OR = 3,109; 95% CI: $1.382 > 3.109 > 6.992$; $\chi^2=7.89$ ($p=0.004972$)).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что маркерами предрасположенности к развитию ГИЭ 3 степени у новорожденных детей явились следующие аллельные варианты и генотипы: для ИЛ-1 T и T/T, для TNF A и G/A, для ИЛ-10 G/A. Следует отметить также, что выявленные полиморфизмы генов исследуемых цитокинов существенным образом влияли на их продукцию, обеспечивая

при этом значительный дисбаланс в продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, особенно выраженный при тяжелой степени ГИЭ.

Приведенные в книге результаты клинических и иммуногенетических исследований позволяют сделать следующие выводы:

1. Выявлено, что факторами риска, имеющими наибольшее прогностическое значение, в развитии гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей являются эклампсия (для ГИЭ 1, 2, 3 степени, соответственно ОШ=8,3; 20,3; 44,9), угроза прерывания беременности (ОШ=8,0; 17,4; 61,9) фетоплацентарная недостаточность (ОШ=7,0; 17,4; 44,0), анемия (ОШ=2,0; 9,0; 38,2), COVID-19 (ОШ=6,0; 18,6; 27,8). При этом перинатальные факторы риска и заболеваемость матери обеспечивали наиболее высокий шанс развития ГИЭ 3 степени.

2. Установлено, что в остром периоде у новорожденных детей с ГИЭ доминирует синдром общего угнетения, соответственно при 1-й, 2-й, 3-й степени: 53,0%, 75,0%, 94,3%. При тяжелой степени у 25,7% новорожденных отмечался судорожный синдром, у 20,0% - гипертензионно-гидроцефальный синдром.

Тяжелая степень ГИЭ осложнялась возникновением ВЖК 2-3 степени в 25,7%, ПВЛ - в 14,3%, отеком мозга - в 40,0%, вентрикуломегалией - в 20,0% случаев. Выявлено улучшение динамики структурных изменений головного мозга к концу 2-й недели жизни при 1-й степени ГИЭ у подавляющего большинства (71,8%), при 2-й - у половины (50,0%), при тяжелой - лишь у трети новорожденных детей (31,4%).

3. Установлено, что у новорожденных с ГИЭ различной степени тяжести уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и TNF- α в пуповинной, и в венозной крови существенно выше, чем у здоровых новорожденных (PP<0,05-0,001), что отражает высокую воспалительную активность, способствует

нейроповреждению и является прогностически значимым событием при возникновении перинатального поражения ЦНС. При этом, чем более выражена степень поражения ЦНС при ГИЭ, тем выше уровень содержания ИЛ-1 β и TNF- α в сыворотке крови.

4. Выявлено, что наиболее высокое содержание ИЛ-10 по сравнению с содержанием в пуповинной крови, в раннем неонатальном периоде определялось у новорожденных с тяжелой степенью ГИЭ (49,3пг/мл) и было выше, чем у здоровых детей в 14,1 раз, что указывает на тяжесть повреждения ЦНС и на неблагоприятный неврологический исход. При ГИЭ средней и легкой степени тяжести концентрация ИЛ-10 в сыворотке крови в позднем неонатальном периоде снизилась относительно пуповинной крови (23,3пг/мл и 19,75пг/мл), соответственно до 19,5пг/мл и 11,2пг/мл, что ассоциировалось с благоприятным исходом у этих новорожденных.

5. Установлено, что полиморфизмы ИЛ-1-511Т/С Т и Т/Т играют значимую роль в развитии церебральной ишемии тяжелой степени у новорожденных детей. Аллельный вариант А и G/A -308(G/A) TNF- α также вносит вклад в предрасположенность к развитию ГИЭ тяжелой степени у новорожденных и тоже, является одним из прогностических факторов развития исследуемой патологии, тогда как генотип GG является протективным.

6. Исследование распределения аллелей и генотипов ИЛ-10G-1082A (rs1800896) показало, что у новорожденных детей с тяжелой степенью ГИЭ генотип GA имел предрасполагающее значение, тогда как генотип GG явился маркером резистентности. Полученные данные говорят о несомненной роли и вовлеченности исследуемых полиморфизмов в развитие патологии ГИЭ и имеют определенные особенности в характере распределения в зависимости от тяжести течения патологического процесса.

7. Установленные генетические маркеры предрасположенности и резистентности цитокинов ИЛ-1,

TNF- α и ИЛ-10 к развитию гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей узбекской национальности, и разработанная электронная программа иммунодиагностики степени тяжести ГИЭ могут быть использованы в комплексе лечебно-диагностических мероприятий в качестве прогностических критериев развития данной патологии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Установленные прогностически значимые факторы риска формирования гипоксически-ишемической энцефалопатии у недоношенных новорожденных детей, в зависимости от степени тяжести, позволят своевременно проводить лечебно-профилактические мероприятия в антенатальном периоде развития плода.

2. Полученные клинические и нейровизуализирующие данные об особенностях течения, осложнениях и структурных поражениях ЦНС в динамике у недоношенных новорожденных с ГИЭ, в зависимости от степени тяжести, могут способствовать совершенствованию лечебно-тактических мероприятий у этих детей.

3. Установленные генетические маркеры предрасположенности и резистентности цитокинов ИЛ-1, TNF- α и ИЛ-10 к развитию гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей узбекской национальности, и разработанная электронная программа иммунодиагностики степени тяжести ГИЭ могут быть использованы в комплексе лечебно-диагностических мероприятий в качестве прогностических критериев развития данной патологии.

4. Установленные значения коэффициентов соотношения между концентрациями провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у недоношенных детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией, могут быть использованы в качестве прогностических критериев, свидетельствующих об ухудшении степени тяжести состояния ребенка. Снижение показателей коэффициентов ИЛ-1 β /ИЛ-10 > 3,3 раза и TNF- α /ИЛ-10 > 4,5 раза следует считать критическими.

5. Установленные параметры ИЛ-1 β , TNF- α и ИЛ-10 у практически здоровых новорожденных детей в периферической крови, можно использовать в качестве нормативных в местном регионе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдей Г. М., Кулеш С. Д., Шумскас М. С. Хроническая ишемия головного мозга (обзор литературы) //Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2008. – №. 1 (21). – С. 6-9.
2. Александрова Ю. Н. О системе цитокинов // Педиатрия. – 2007. – № 8. – С. 124–128
3. Алейников А. С. и др. Провоспалительные цитокины в слюнном секрете больных хроническим сиалодохитом //Вестник российских университетов. Математика. – 2014. – Т. 19. – №. 6. – С. 1909-1914.
4. Амбросова Т. Н., Ковалева О. Н., Ащеулова Т. В. Роль нарушений углеводного обмена и активности провоспалительных цитокинов в развитии артериальной гипертензии, ассоциированной с ожирением //Укр. кардиол. журнал. – 2009. – №. 3. – С. 34-38.
5. Аримото Т. и соавт. Интерлейкин-10 защищает от воспалительной дегенерации дофаминергических нейронов черной субстанции // Нейробиология старения. – 2007. – Т. 28. – №. 6. – С. 894-906.
6. Бабик Р. К., Никушкина К. В., Бабик Т. М. Оценка уровня цитокинов у детей с манифестными и латентными внутриутробными герпетическими инфекциями //Цитокины и воспаление. – 2014. – Т. 13. – №. 1. – С. 34-36.
7. Батенова Е.И., Трофимоф Д.Ю., Хаитов. Использование количественной полимеразной цепной реакции для оценки цитокинового профиля человека // – 2006. – Т. 27. – №. 1. – С. 9-13.
8. Барычева Л. Ю. и др. Клиническое значение провоспалительных интерлейкинов у новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС //Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2021. – Т. 16. – №. 3. – С. 310-312.
9. Барычева Л. Ю. и др. Полиморфизм генов рецепторов врожденного иммунитета у новорожденных с гипоксически-

ишемическим поражением ЦНС //Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2022. – №. 2 (69). – С. 33-35.

10. Бацкалевич Н. А., Веревицкий В. К., Лагерева Ю. Г. Оценка иммунитета и иммуотропной терапии энтеровирусных менингитов //Инфекционные болезни. – 2009. – Т. 7. – №. 3. – С. 30-34.

11. Беликова М. Э. Иммунологические проблемы у новорожденных с перинатальными поражениями центральной нервной системы. – 2010. 240с

12. Бодиенкова Г. М., Титова Ж. В. Роль полиморфизма и экспрессии отдельных генов цитокинов в формировании патологии (обзор) //Успехи современного естествознания. – 2015. – №. 1-4. – С. 616-620.

13. Бугрым Н.В., Логвинова И.И. Связь иммунного статуса и заболеваемости к году у детей, перенесших тяжелую асфиксию. ВНМТ 2010; 3: 13–15.

14. Галактионова М. Ю., Осадцова Е. А. Перинатальные поражения нервной системы у детей и их последствия: подходы к терапии //Вопросы практической педиатрии. – 2013. – Т. 8. – №. 2. – С. 23-29.

15. Галашева З. В., Поскотинова Л. В. Роль интерлейкина-6 и интерлейкина-10 в функционировании нервной системы на раннем и зрелом этапах онтогенеза //Журнал медико-биологических исследований. – 2016. – №. 3. – С. 5-17.

16. Гараев В. Р. и др. Провоспалительные цитокины в крови и повторная судорожная активность у доношенных новорожденных с церебральной ишемией //Педиатрия. Журнал им. ГН Сперанского. – 2013. – Т. 92. – №. 2. – С. 33-37.

17. Громова А. Ю., Симбирцев А. С. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека //Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4. – №. 2. – С. 1-12.

18. Гулиев Н. Д. О., Рагимова Н. Д. Полиморфизм генов цитокинов у новорожденных с внутриутробными инфекциями //Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2015. – Т. 60. – №. 6. – С. 42-47.

19. Девялтовская М. Г. Связи между уровнем развития психоневрологических функций и содержанием антител к нейроспецифическим белкам у детей с последствиями пре- и перинатального поражения головного мозга // Наука о жизни и здоровье. – 2015. – №. 1-2. – С. 18-23.

20. Дюсенова С. Б., Корнеева Е. А., Домбровская И. Л. Последствия постгипоксических изменений головного мозга у детей: клинические особенности и диагностика // Успехи современного естествознания. – 2014. – №. 7. – С. 9-11.

21. Ешмоллов С. Н., Ситников И. Г., Мельникова И. М. Цитокины ФНО-а, ИФН-у, ИЛ-1, ил-4, ИЛ-8 и их роль в иммунном ответе при инфекционном поражении ЦНС у детей // Детские инфекции. – 2018. – Т. 17. – №. 1. – С. 17-22.

22. Желев В. А. Погудина А.С., Филиппов Г.П., Нагаева Т.А., Кривоногова Т.А. Клинико-метаболическая адаптация новорожденных с гипоксическим поражением центральной нервной системы в сочетании с врожденными пороками сердца // Мать и дитя в Кузбассе. – 2015. – №. 2. – С. 74-78.

23. Зарубин А. А. Михеева, Н. И., Филиппов, Е. С., Белогорова, Т. А., Ваняркина, А. С., Шишкина, А. А. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия у новорождённых, рождённых в тяжёлой асфиксии // Acta Biomedica Scientifica. – 2017. – Т. 2. – №. 2 (114). – С. 95-101.

24. Идрисова А. С. и др. Полиморфные маркеры генов рецепторов врожденного иммунитета у новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением цнс // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2021. – Т. 16. – №. 4. – С. 349-354.

25. Идрисова Р. М., Алискандиев А. М. Частота и характер структурных изменений головного мозга у новорожденных и детей раннего возраста с судорогами при гипоксически-ишемической энцефалопатии // Академический журнал Западной Сибири. – 2010. – №. 2. – С. 37-39.

26. Иова А. С., Щугарева Л. М., Гармашов Ю. А. Пути повышения чувствительности шкалы комы Глазго у детей (педиатрическая шкала комы Глазго Санкт-Петербург)

//Первая Всероссийская конференция по детской нейрохирургии. – 2003. – С. 134-135.

27. Иутинский Э. М., Дворянский С. А., Дрождина М. Б. Течение беременности и родов у женщин с фетоплацентарной недостаточностью //Актуальные проблемы медицины. – 2014. – Т. 27. – №. 18 (189). – С. 54-57.

28. Калиева М. А., Пальчиков М. А., Зуйков К. Г. Факторы риска и возможные отдаленные последствия перинатальной энцефалопатии в детском возрасте //Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2019. – №. 76. – С. 66-71.

29. Капустина О. Г., Сурков Д. Н., Иванов Д. О. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия у новорожденных: современное состояние проблемы //Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. ВА Алмазова. – 2013. – №. 2. – С. 84-105.

30. Каркашадзе Г. А. и др. Современные данные о патогенезе и лечении гипоксически-ишемических поражений головного мозга у новорожденных //Педиатрическая фармакология. – 2016. – Т. 13. – №. 5. – С. 452-467.

31. Каркашадзе Г. А. Савостьянов К. В., Макарова С. Г., Намазова-Баранова Л. С., Маслова О. И., Яцык Г. В. Нейрогенетические аспекты гипоксически-ишемических перинатальных поражений центральной нервной системы //Вопросы современной педиатрии. – 2016. – Т. 15. – №. 5. – С. 440-451.

32. Кимирилова О. Г., Харченко Г. А., Кимирилов А. А. Иммуноглобулиноterapia энтеровирусных менингитов у детей //Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – Т. 61. – №. 2. – С. 79-83.

33. Князева А. С. Генетический полиморфизм некоторых цитокинов в патогенезе хронической ишемии мозга : дис. – Читинская государственная медицинская академия, 2015.

34. Князева Т. П. Причины и факторы риска преждевременного разрыва плодных оболочек //Дальневосточный медицинский журнал. – 2016. – №. 2. – С. 128-135.

35. Князева А. С., Страмбовская Н. Н. Частота полиморфизма генов провоспалительных цитокинов у больных хронической ишемией головного мозга в Забайкальском крае //Acta Biomedica Scientifica. – 2014. – №. 1 (95). – С. 30-34.

36. Князева А. С., Страмбовская Н. Н. Агрегационная активность тромбоцитов и образование лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов у носителей генетического полиморфизма цитокинов больных хронической ишемией головного мозга //Забайкальский медицинский вестник. – 2014. – №. 1. – С. 32-38.

37. Князева А. С., Страмбовская Н. Н., Терешков П. П. Концентрация интерлейкинов в плазме крови больных хронической ишемией головного мозга, носителей генетического полиморфизма некоторых провоспалительных цитокинов //Молекулярная медицина. – 2015. – №. 6. – С. 48-52.

38. Ковальчук Л.В. Соболев Б.Н. Князев О. Анализ молекулярного взаимодействия в системе IL-1 β -IL-1RA-IL-1R- //Иммунология. – 2021. №. 1. – с. 6-10.

39. Козлов В. А. Некоторые аспекты проблемы цитокинов //Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1. – №. 1. – С. 1-8.

40. Колесникова Е. В. и др. Цитокиновый профиль крови беременных с различными вариантами течения хронической фетоплацентарной недостаточности и их новорожденных //Российский иммунологический журнал. – 2014. – Т. 8. – №. 1. – С. 61-66.

41. Краснопольский В.И., Логутова Л.С. , Петрухин В.А. и др. Система оценки степени тяжести фетоплацентарной недостаточности у беременных и рожениц //Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – Т. 8. – №. 5. – С. 87-95

42. Красноруцкая О. Н., Балакирева Е.А., Зуйкова А.А., Добрынина И.С. Оценка степени участия биохимических маркеров перинатального поражения центральной нервной системы у детей //Вестник новых медицинских технологий. – 2014. – Т. 21. – №. 2. – С. 26-29.

43. Курзина Е. А. и др. Прогнозирование состояния здоровья в катамнезе у детей, перенесших тяжелую перинатальную патологию //Детская медицина Северо-Запада. – 2010. – Т. 1. – №. 1. – С. 22-27.

44. Лебедева О. В., Черкасов Н. С., Манжиева О. С. Значение системы цитокинов в иммунопатогенезе перинатальных осложнений у новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела //Вопросы практической педиатрии. – 2012. – Т. 7. – №. 2. – С. 9-13.

45. Левкович М. А., Линде В. А., Плахотя Т. Г. Показатели цитокинового статуса у новорожденных с перинатальным поражением ЦНС от матерей с хронической плацентарной недостаточностью //Медицинский вестник Юга России. – 2015. – №. 3. – С. 78-81.

46. Мавропуло Т. К. Иванов Д.О., Сурков Д.Н., Фот А.Ю. Особенности оказания неотложной и реанимационной помощи новорожденным, родившимся в 22-27 недель гестации //Детская медицина Северо-Запада. – 2012. – Т. 3. – №. 2. – С. 4-13.

47. Макарычева О. Ю. и др. Анализ сцепления и ассоциации аллелей генов провоспалительных цитокинов IL-6, IFNG и TNF с рассеянным склерозом с помощью теста неравновесной передачи аллелей (TDT) //Молекулярная биология. – 2010. – Т. 44. – №. 5. – С. 824-830.

48. Мелашенко Т. В. Поздняков А.В., Львов В.С., Иванов Д.О. МРТ-паттерны гипоксически-ишемического поражения головного мозга у доношенных новорожденных //Педиатр. – 2017. – Т. 8. – №. 6. – С. 86-93.

49. Мелашенко Т. В., Гузева В. В. Особенности транзиторной биоэлектрической активности головного мозга у недоношенных детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы //Педиатр. – 2014. – Т. 5. – №. 1. – С. 32-36.

50. Моллаева Н. О., Насруллаева Г. М., Гулиев Н. Д. Изучение цитокинового статуса у новорожденных и детей

грудного возраста с внутриутробными инфекциями //Медицинские новости. – 2011. – №. 2.

51. Молочный В. П., Новик Е. С., Обухова Г. Г. Цитокиновый статус ликвора у детей с менингококковым и энтеровирусным менингитами //Детские инфекции. – 2007. – Т. 6. – №. 2. – С. 10-12.

52. Осмоловский Д. С., Гвозденко Т. А., Осмоловский С. В. Эффективность восстановительного лечения недоношенных детей с перинатальными поражениями ЦНС //Вестник физиотерапии и курортологии. – 2021. – Т. 27. – №. 2. – С. 84-85.

53. Павлинова Е. Б. и др. Поражение центральной нервной системы у новорожденных детей: новые возможности персонафицированной диагностики //Современные проблемы науки и образования. – 2019. – №. 6. – С. 203-203.

54. Пальчик, А. Б. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных / А. Б. Пальчик, Н. П. Шабалов. – 6-е изд. – Москва:

55. Панова М. С. и др. Возможности ранней диагностики гипоксического повреждения головного мозга у доношенных новорожденных //Сибирское медицинское обозрение. – 2022. – №. 1 (133). – С. 51-58.

56. Панова М. С. и др. Концентрация цитокинов как ранний маркер гипоксического повреждения головного мозга у доношенных новорожденных //Лечение и профилактика. – 2021. – Т. 11. – №. 1. – С. 20-25

57. Панова М. С., Панченко А. С. Роль цитокинов и их генетического полиморфизма в развитии гипоксически-ишемической энцефалопатии у доношенных новорожденных детей //Педиатр. – 2017. – Т. 8. – №. 6. – С. 99-104.[doi: 10.17816/PED8699-104](https://doi.org/10.17816/PED8699-104)

58. Панова М. С., Панченко А. С. Современные представления о патобиохимических механизмах церебральной ишемии у новорожденных детей //Аспирант. – 2017. – №. 5. – С. 97-102.

59. Панова М. С., Панченко А. С. Факторы риска гипоксически-ишемической энцефалопатии у доношенных новорожденных детей //Забайкальский медицинский вестник. – 2017. – №. 4. – С. 84-89.

60. Панова М. С., Панченко А. С., Пушкарев Б. С. Частота полиморфизма генов цитокинов у доношенных новорождённых детей с гипоксическими событиями //Acta Biomedica Scientifica. – 2020. – Т. 5. – №. 4. – С. 21-27.

61. Панченко А. С., Панова М. С. Содержание провоспалительных цитокинов в пуповинной крови у доношенных новорожденных детей с гипоксическими событиями //Забайкальский медицинский вестник. – 2019. – №. 4. – С. 84-89.

62. Папшева Е. А., Шокарев Р. А., Кривенцова А. А. Частота полиморфизма Val66Met гена BDNF у детей первого года жизни с перинатальным поражением центральной нервной системы легкой и средней степени тяжести //Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т. 20. – №. 2-2. – С. 92-97.

63. Перлман Д. М. Неврология. Проблемы и противоречия в неонатологии //М.: Логосфера.-2015.-с. – 2015. – Т. 392.

64. Петренко Ю. В., Иванов Д. О., Курзина Е. А. Оценка органной недостаточности у новорожденных //Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. ВА Алмазова. – 2011. – Т. 2. – С. 43-50

65. Петрухин А.С. Детская неврология: в 2-х т.– М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 845 с

66. Пигаревский П. В., Мальцева С. В., Селиверстова В. Г. Иммунная система, атеросклероз и персистирующая инфекция //Вестник Российской академии высоких наук. – 2005. – №. 2. – С. 17-22.

67. Полин Р.А., Неврология П. Д. М. Проблемы и противоречия в неонатологии/Под ред //М.: Логосфера. – 2015.

68. Полин Р.А., Спитцер А.Р. Секреты неонатологии и перинатологии. – М.: БИНОМ; 201342)

69. Пузырева Л. В., Сафонов А. Д. Генетический полиморфизм цитокинов: прошлое и будущее //Инфекция и иммунитет. – 2016. – Т. 6. – №. 2. – С. 103-108.

70. Раева Р. М.,Кегенбекова А.С., Кокумбекова Ж.Б., Сулейменова А.Б., Шоқыбаева М.У, Утегенова А.С., Джумадилова Д.Б. и др. Акушерские и перинатальные исходы при острых вирусных инфекциях //Вестник Казахского национального медицинского университета. – 2013. – №. 4-1. – С. 21-22.

71. Ризванова Ф. Ф., Пикуза О.И., Файзуллина Р.А., Гайфуллина Р.Ф., Ризванов А.А., Кравцова О.А. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов //Практическая медицина. – 2010. – №. 45. – С. 41-43.

72. Рогалёва Т. Е. Состояние иммунитета и гемостаза при перинатальных поражениях ЦНС у новорожденных детей от матерей с гестозами : дис. – Чита: ТЕ Рогалева, 2009. 152с.

73. Сергеева В. А., Александрович Ю. С., Петренкова Н. С. Предикторы гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей //Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2017. – Т. 14. – №. 4. – С. 16-22.

74. Серов В. Н. Диагностика и лечение плацентарной недостаточности // РМЖ. – 2008. – С. 35–40.

75. Симбирцев А. С. Цитокины: классификация и биологические функции //Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3. – №. 2. – С. 16-22.

76. Сиротина З. В. Гипоксически-ишемические поражения ЦНС у новорожденных детей (клиническая лекция) //Здравоохранение Дальнего Востока. – 2017. – №. 4. – С. 65-74.

77. Скоромец А. П. и др. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия у новорожденных //Журнал неврології ім. БМ Маньковського. – 2014. – №. 2,№ 3. – С. 25-28.

78. Смагина И. В., Ельчанинова С. А., Бодрова Ю. В. Связь полиморфизма генов иммунной системы с особенностями течения рассеянного склероза //Бюллетень медицинской науки. – 2017. – №. 1 (5). – С. 70-74.

79. Созаева Д. И., Бережанская С. Б. Роль иммуноцитоклинов в генезе церебральной ишемии у новорожденных из группы высокого перинатального риска //Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. – №. 2. – С. 151-155.

80. Сороковикова Т. В., Чичановская Л. В., Корнюшо Е. М. Клинико-анамнестические, ультразвуковые и биохимические особенности перинатальных поражений ЦНС у доношенных новорожденных //Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. – 2016. – №. 8. – С. 46-49

81. Сурков Д. Н., Капустина О. Г., Иванов Д. О. Влияние искусственной вентиляции легких на церебральный статус у новорожденных в остром периоде гипоксически-ишемической энцефалопатии //Вестник современной клинической медицины. – 2014. – Т. 7. – №. 6. – С. 46-55.

82. Турсунбаева Ф.Ф., Насирова У.Ф., Сравнительная характеристика факторов риска у недоношенных новорожденных детей с перинатальным поражением ЦНС. // Научно-практический журнал «Педиатрия» –Узбекистон 2020. – №. 4. – С. 6-11.

83. Турсункулова Д.А., Шавази Н.М., Лим В.И., Закирова Б.И. Патогенетическая роль генеалогических и соматогенных факторов в развитии энцефалопатии у новорожденных и детей раннего возраста //Тюменский медицинский журнал. – 2011. – №. 1. – С. 25-26.

84. Хаитов Р.М. Иммунология. Структура и функции иммунной системы: Учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 280 с.

85. Халецкая О. В., Соколова О. Г., Довиденко Р. Х. Современный подход к диагностике перинатальных гипоксических поражений нервной системы у детей первого года жизни //Современные технологии в медицине. – 2009. – №. 2. – С. 46-52.

86. Чегодаев Д. А., Львова О. А., Баранов Д. А. Генетические аспекты патогенеза детского церебрального паралича

//Системная интеграция в здравоохранении. – 2012. – №. 3. – С. 52-60.

87. Чистякова Г. Н. и др. Про-и противовоспалительные медиаторы у новорожденных с перинатальной патологией //Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2014. – Т. 59. – №. 2. – С. 66-70.

88. Чистякова Г. Н., Ремизова Л.Л., Газиева Л.А., и др. Про-и противовоспалительные медиаторы у новорожденных с перинатальной патологией //Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2014. – Т. 59. – №. 2. – С. 66-70.

89. Чувакова Т. К., Карин Б. Т. Нейрохимические нарушения при гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей //Клиническая медицина Казахстана. – 2017. – №. 3 (45). – С. 141-144.

90. Шабалов Н. П. и др. Перинатология. – 2020.

91. Шакина Л. Д., Смирнов И. Е. Биомаркеры перинатальной гипоксии //Молекулярная медицина. – 2010. – №. 3. – С. 19-28.

92. Шейбак Л. Н. Особенности обеспечения и потребность в аминокислотах в периоде новорожденности //Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2015. – Т. 14. – №. 2. – С. 23-30.

93. Щекина Г., Ищенко А.М., Штрыголь С.Ю., и др. Изучение церебропротекторных свойств рекомбинантного рецепторного антагониста интерлейкина 1 человека (IL-1Ra) в эксперименте. Церебропротекторные свойства IL-1Ra при ишемическом и травматическом поражении головного мозга у мышей // Цитокины и воспаление. – 2013. – т. 12. – № 3. – С. 29–34.

94. Якорнова Г. В. и др. Динамика провоспалительных цитокинов у детей, родившихся у женщин с осложненной беременностью, в зависимости от течения раннего периода адаптации //Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2015. – Т. 60. – №. 4. – С. 50-56.

95. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010: 752. [Yarilin A.A. ImMUnology. M.: GEOTAR-Media, 2010.: 752. (In Russ.)]

96. Ходжиметова Ш.Х., Гулямова М.А., Турсунбаева Ф.Ф., Лутфуллаева С.А. Перинатальные поражения нервной системы новорожденных, родившихся от матерей с гипертензивными расстройствами. // Научно-практический журнал «Педиатрия» - Узбекистон 2021, № 1, С- 34-40.

97. Andersen M. Andersen, M., Pedersen, M. V., Andelius, T. C. K., Kyng, K. J., Henriksen T. B. Neurological Outcome Following Newborn Encephalopathy With and Without Perinatal Infection: A Systematic Review //Frontiers in pediatrics. – 2021. – Т. 9. – С. 787804.

98. Asadullah K., Sterry W., Volk H.D. Interleukin-10 therapy review of new approach // Pharmacological reviews. — 2003. — Vol. 55, №2. — P. 241-269.

99. Boskabadi H. et al. Assessment of risk factors and prognosis in asphyxiated infants //Iranian journal of pediatrics. – 2015. – Т. 25. – №. 4. 76)

100. « Evropejskoe zdorov'e dlja vseh» (European health for all) Copenhagen, WHO Regional Office for Europe (<http://data.euro.who.int/hfad>, accessed 23 March 2014).

101. Cabaj AG, Bekiesin'ska-Figatowska M., Madzic J. MRI patterns of hypoxic — ischemic brain injury in preterm and full term infants — classical and less common MR findings. Pol J Radiol. 2012;77(3):71-76. doi: 10.12659/PJR.883379.

102. Ceccon M. E. Interleukins in hypoxic-ischemic encephalopathy //Jornal de pediatria. – 2003. – Т. 79. – №. 4. – С. 280-281.

103. Chaparro-Huerta V., Flores-Soto M.E., Merin Sigala M.E., et al. Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns // Pediatr Neonatol. 2017. Vol. 58. №1. P.70-76. 160)

104. Clarke M, Newton RW, Klapper PE, et al. Childhood encephalopathy: viruses, immune response, and outcome. Dev Med

Child Neurol. 2006;48(4):294-300. doi: 10.1017/S0012162206000636138)

105. Committee on Fetus and Newborn, American Academy of Pediatrics et al. Use and abuse of the Apgar score //Pediatrics. – 1996. – T. 98. – C. 141-142.

106. Cowan F, Azzopardi D. Hypoxic-ischaemic encephalopathy. Paediat Child Health. 2007;17(2):47-57. doi: 10.1016/j.paed.2007.01.005.

107. Cowan F, Rutherford M, Groenendaal F, et al. Origin and timing of brain lesions in term infants with neonatal encephalopathy. Lancet. 2003;361:736-742. doi: 10.1016/S0140-6736(03)12658-X.

108. Dammann O, O'Shea TM. Cytokines and perinatal brain damage. Clin Perinatol. 2008;35(4):643-663,v. doi: 10.1016/j.clp.2008.07.011140)33

109. Darogha S. N. Serum levels of TNF-a and IFN-g gene polymorphism in type 2 diabetes mellitus in kurdish patients //Cellular and Molecular Biology. – 2021. – T. 67. – №. 2. – C. 171-177. 131)35

110. De Menezes M.S. Hypoxic-ischemic brain injury in the newborn // [Электронный ресурс] URS. 2013. <http://emedicine.medscape.com/article/1183351> (дата обращения: 20.05.2011).

111. De Menezes, M.S. Hypoxic-ischemic brain injury in the newborn / M.S. de Menezes. — 2013. — URL: <http://emedicine.medscape.com/article/118335135>) 228.

112. Dergans M, Osredkar D. Hypoxic-ischemic brain injury In the neonatal

113. Doll D.N., Barr T.L., Simpkins J.W. Cytokines: their role in stroke and potential use as biomarkers and therapeutic targets // Aging Dis. 2014. Vol. 5. №5. P.294-306.

114. Duran R., Gorker I., Acunas B. [et al.]. Effect of neonatal resuscitation courses on long-term neurodevelopmental outcomes of newborn infants with perinatal asphyxia// Pediatr. Int. — 2012. — Vol. 54, № 1. — P.56—59.

115. Freeman J. M. The use of amplitude-integrated electroencephalography: beware of its unintended consequences // *Pediatrics*. – 2011 – T. 119. – №. 3. – C. 615-617.

116. Fudong L., Louise D. Mccullough. Inflammatory responses in hypoxic ischemic encephalopathy // *Acta Pharmacologica Sinica*. – 2013. – Vol. 34. – P. 1121–1130.

117. Gabriel ML, Braga FB, Cardoso MR, et al. The association between pro- and anti-inflammatory cytokine polymorphisms and periventricular leukomalacia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Inflamm Res*. 2016;9:59-67. doi: 10.2147/JIR.S103697.

118. Gelfand A.A., Croen L.A., Torres A.R. Genetic risk factors for perinatal arterial ischemic stroke. *Pediatr Neurol*. 2013 Jan; 48(1): 36–41.

119. Getahun D. et al. In utero exposure to ischemic-hypoxic conditions and attention-deficit/hyperactivity disorder // *Pediatrics*. – 2013. – T. 131. – №. 1. – C. e53-e61.

120. Glass HC, Hong KJ, Rogers EE, et al. Risk factors for epilepsy in children with neonatal encephalopathy. *Pediatr Res*. 2011; 70(5):535-540. doi: 10.1203/PDR.0b013e31822f24c7

121. Grivell R.M., Reilly A.J., Oakey H. et al. Maternal and infant outcomes by onset of labour at term: a population-based cohort study // *Acta Obstet Gynecol Scand*. – 2012. – Vol. 91, N 2. – P. 198-203.

122. Hallman M. Premature birth and diseases in premature infants: common genetic background? // *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. – 2012. – T. 25. – №. sup1. – C. 21-24.

123. Hogan AM, de Haan M, Datta A, Kirkham FJ. Hypoxia: an acute, intermittent and chronic challenge to cognitive development. *Dev Sci*. 2006; 9(4):335-337. doi: 10.1111/j.1467-7687.2006.00497.x.

124. Holmes G. L. Effects of seizures on brain development: lessons from the laboratory // *Pediatric neurology*. – 2005. – T. 33. – №. 1. – C. 1-11.

125. Johnston MV, Trescher WH, Ishida A, Nakajima W. Neurobiology of hypoxic-ischemic injury in the developing brain.

Pediatr Res. 2001;49(6):735-741. doi: 10.1203/00006450-200106000-00003.

126. Kayaalti Z, Tekin D, Aliyev V, et al. Effects of the interleukin-6 (IL-6) polymorphism on toxic metal and trace element levels in placental tissues. *Sci Total Environ.* 2011;409(23):4929-4933. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.08.0361

127. Kim Y. J. et al. IL-1 β , an immediate early protein secreted by activated microglia, induces iNOS/NO in C6 astrocytoma cells through p38 MAPK and NF- κ B pathways // *Journal of neuroscience research.* – 2006. – T. 84. – №. 5. – C. 1037-1046.

128. Kremlev S. G., Palmer C. Interleukin-10 inhibits endotoxin-induced pro-inflammatory cytokines in microglial cell cultures // *Journal of neuroimmunology.* – 2005. – T. 162. – №. 1-2. – C. 71-80

129. Kurinczuk JJ, White-Koning M, Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev.* 2010;86(6):329-38. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2010.05.010.

130. Kurschus F. C. et al. Genetic proof for the transient nature of the Th17 phenotype // *European journal of immunology.* – 2010. – T. 40. – №. 12. – C. 3336-3346.

131. Lupton A. R. Birth asphyxia and hypoxic-ischemic brain injury in the preterm infant // *Clinics in perinatology.* – 2016. – T. 43. – №. 3. – C. 529-545.

132. Lee S. Y. et al. IL-6 trans-signaling system in intra-amniotic inflammation, preterm birth, and preterm premature rupture of the membranes // *The Journal of Immunology.* – 2011. – T. 186. – №. 5. – C. 3226-3236.

133. Linda S de Vries, Jongmans MJ. Long-term outcome after neonatal hypoxic — ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2010;95: F220-F224. doi: 10.1007/s00234-010-0674-9.

134. Linda S. de Vries, Groenendaal F. Patterns of neonatal hypoxic-ischaemic brain injury. *Neuroradiology.* 2010;52:555-566

135. McAdams R.M. The role of cytokines and inflammatory cells in perinatal brain injury // *Neurol. Res. Int.* – 2012. – Vol. 2012. – 561494. doi: 10.1155/2012/561494.

136. Mercuri E. et al. Head growth in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy: correlation with neonatal magnetic resonance imaging // *Pediatrics.* – 2000. – T. 106. – №. 2. – C. 235-243.

137. Merino S. T., Bonilla MRT, Chavez BAL, et al.. Functional Polymorphism of the Interleukin-1beta Gene Promoter is Associated with Increased Risk for Cerebral Palsy in Mexican Children with Perinatal Hypoxia-Ischemia Antecedents // *Neonatal Biol.* – 2015. – T. 4. – №. 1. – C. 166-172.

138. Massaro A.N., Wu Y.W., Bammler T.K., Comstock B., Mathur A., McKinstry R.C. et al. Plasma biomarkers of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J. Pediatr.* 2018; 194: 67–75.e1. DOI: 10.1016/j.jpeds.2017.10.060

139. Mosher AA, Rainey KJ, Giembycz MA, et al. Prostaglandin E2 represses interleukin 1 beta-induced inflammatory mediator output from pregnant human myometrial cells through the EP2 and EP4 receptors. *Biol Reprod.* 2012;87(1):7, 1-10. doi: 10.1095/biolre-prod.112.100099.

140. Parets SE, Knight AK, Smith AK. Insights into genetic susceptibility in the etiology of spontaneous preterm birth. *Appl Clin Genet.* 2015;8:283–290. doi: 10.2147/tacg.s58612.

141. Sävman K, Blennow M, Hagberg H, et al. Cytokine response in cerebrospinal fluid from preterm infants with posthaemorrhagic ventricular dilatation. *Acta Paediatr.* 2007;91(12):1357-1363. doi: 10.1111/j.1651-2227.2002.tb02834.x

142. Pin TW, Eldridge B, Galea MP. A review of developmental outcomes of term infants with post-asphyxia neonatal encephalopathy. *Eur J Paediatr Neurol.* 2009;13(3):224-34. doi: 10.1016/j.ejpn.2008.05.001.

143. Rakhmankulova Z.J, Khojimetova Sh. Kh, Khodzhamova N.K, Abdukodirova M.K., Suleymanova L.I. Significance of risk

factors and features of the clinical condition of intraventricular hemorrhage in newborn //SIGNIFICANCE. – Т. 7. – №. 05. – С. 2020

144. Placha K., Luptakova D., Baciak L., et al. Neonatal brain injury as a consequence of insufficient cerebral oxygenation // NeuroEndocrinol. 2016. Vol. 37. №2. P.79-961.

145. Prasad JD, Gunn KC, Davidson JO, Galinsky R, Graham SE, Berry MJ, Bennet L, Gunn AJ, Dean JM. Anti-Inflammatory Therapies for Treatment of Inflammation-Related Preterm Brain Injury. Int J Mol Sci. 2021 Apr 13;22(8): 4008. doi: 10.3390/ijms22084008. PMID: 33924540; PMCID: PMC8069827.

146. Rainaldi M. A., Perlman J. M. Pathophysiology of birth asphyxia //Clinics in perinatology. – 2016. – Т. 43. – №. 3. – С. 409-422.

147. Raju Tonse N. K., Rosenkrantz T., Konop R. Hypoxic-ischemic brain injury in the newborn // [Электронный ресурс] URS. 2003. <http://www.emedicine.com/ped/byname/hypoxic-ischemic-encephalopathy.htm> (дата обращения: 20.05.2011).

148. Rothwell N. Interleukin-1 and neuronal injury: mechanisms, modification, and therapeutic potential. BrainBehavImmun. 2003;17(3):152-157. doi: 10.1016/s0889-1591(02)00098-3.

149. Ruzibakieva M, Aripova T, Azizova Z, Yuldasev U, Sultanov P, Sadikov D. Interleukin-1 gene polymorphisms role in development of chronic glomerulonephritis and ESRD. EJPMR. 2019;6(6):300-303.

150. Ruiz R. J. et al. Second trimester maternal plasma levels of cytokines IL-1Ra, Il-6 and IL-10 and preterm birth //Journal of Perinatology. – 2012. – Т. 32. – №. 7. – С. 483-490.

151. Sarnat H. B., Sarnat M. S. Neonatal encephalopathy following fetal distress: a clinical and electroencephalographic study //Archives of neurology. – 1976. – Т. 33. – №. 10. – С. 696-705.

152. Schiering IA, de Haan TR, Niermeijer JM, et al. Correlation between clinical and histologic findings in the human neonatal hippocampus after perinatal asphyxia. J Neuropathol Exp Neurol. 2014;73(4):324-34. doi: 10.1097/NEN.0000000000000056.

153. Shohami E. Dual role of tumor necrosis factor α in brain injury. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 1999;10(2):119-130. doi: 10.1016/s1359-6101(99)00008-8.
154. Shohami E., Ginis I., Hallenbeck J. M. Dual role of tumor necrosis factor α in brain injury // *Cytokine & growth factor reviews*. – 1999. – T. 10. – №. 2. – C. 119-130.
155. Van Handel M. et al. Long-term cognitive and behavioral consequences of neonatal encephalopathy following perinatal asphyxia: a review // *European journal of pediatrics*. – 2007. – T. 166. – №. 7. – C. 645-654.
156. Volpe J. J. *Neurology of the newborn E-book*. – 2008.
157. Wen AQ, Gu W, Wang J, et al. Clinical relevance of IL-1 β promoter polymorphisms (-1470, -511, and -31) in patients with major trauma. *Shock*. 2010;33(6):576-82. doi: 10.1097/SHK.0b013e3181cc0a8e.
158. Wilson L. A. et al. Association between newborn screening analytes and hypoxic ischemic encephalopathy // *Scientific reports*. – 2019. – T. 9. – №. 1. – C. 1-7.
159. Wintermark P., Boyd T., Gregas M. C. et al. Placental pathology in asphyxiated newborns meeting the criteria for therapeutic hypothermia // *J. Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 203, № 6. – P. 579.e1–9.
160. Wira C. R. et al. Innate and adaptive immunity in female genital tract: cellular responses and interactions // *Immunological reviews*. – 2005. – T. 206. – №. 1. – C. 306-335.
161. Wu YW, Croen LA, Torres AR, et al. Interleukin-6 genotype and risk for cerebral palsy in term and near-term infants. *Ann Neurol*. 2009;66(5):663-670. doi: 10.1002/ana.21766.
162. Yang L., Li D., Chen S. Hydrogen water reduces NSE, IL-6, and TNF- α levels in hypoxic-ischemic encephalopathy // *Open Medicine*. – 2016. – T. 11. – №. 1. – C. 399-406.
163. Yang L., Li D., Chen S. Hydrogen water reduces NSE, IL-6, and TNF- α levels in hypoxic-ischemic encephalopathy // *Open Medicine*. – 2016. – T. 11. – №. 1. – C. 399-406.

164. Yilmaz Y., Verdi H., Taneri A., et al. Maternal–fetal proinflammatory cytokine gene polymorphism and preterm birth //DNA and cell biology. – 2012. – Т. 31. – №. 1. – С. 92-97.
165. Yoon BH, Park C-W, Chaiworapongsa T. Intrauterine infection and the development of cerebral palsy. BJOG. 2003;110:124-127. doi: 10.1046/j.1471- 0528.2003.00063.x.
166. Zanelli S.A, Stanley D.P., Kaufman D. Hypoxic- ischemic encephalopathy // [Электронныйресурс] URS. 2012. <http://emedicine.medscape.com/article/973501> (датаобращения: 25.09.2012).
167. Zanelli S.A, Stanley D.P., Kaufman D. Hypoxic- ischemic encephalopathy// [Электронныйресурс] URS. 2012. <http://emedicine.medscape.com/article/973501> (датаобращения: 25.09.2012).
168. Zanelli, S.A. Hypoxic-ischemic encephalopathy / S.A. Zanelli, D.P. Stanley,D.Kaufman.2012.URL[http://emedicine.medscape.com/art icle/97350115](http://emedicine.medscape.com/article/97350115)
169. Zhu Q, Sun J, Chen Y. Preterm birth and single nucleo- tide polymorphisms in cytokine genes. Transl Pedi- atr. 2014;3(2):120- 134. doi: 10.3978/j.issn.2224- 4336.2014.03.02.

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА РАЗВИТИЕ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ	7
§.1.1. Этиопатогенетические и клинические аспекты течения гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей.....	7
§.1.2. Современные представления о роли цитокинов в патогенезе гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей.....	13
§.1.3. Генетические предикторы возникновения гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей.....	19
ГЛАВА II. ОБЪЕМ И МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ .	30
§.2.1. Общая характеристика обследованных новорожденных детей.....	30
§.2.2. Методы исследования.....	30
§.2.2.1 Клинические методы исследования.....	30
§.2.2.2. Иммунологические методы исследования.....	30
§.2.2.3 Молекулярно -генетические методы исследования.....	33
§.2.2.4. Инструментальные методы исследования.....	35
§.2.2.5. Статистическая обработка результатов.....	36
ГЛАВА III. ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ РИСКА И ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ГИЭ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ	39
§.3.1. Значимость перинатальных факторов риска в формировании гипоксически-ишемической энцефалопатии различной степени тяжести у недоношенных детей.....	39
§.3.2. Особенности клинического течения гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей в зависимости от степени тяжести.....	48
§.3.3. Характеристика структурных поражений ЦНС у новорожденных детей при ГИЭ по данным нейросонографии....	59
ГЛАВА IV. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ	66

§.4.1.Содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , TNF- α в сыворотке крови у новорожденных детей в зависимости от степени тяжести ГИЭ.....	66
§.4.2. Концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в сыворотке крови у новорожденных детей с ГИЭ в зависимости от степени тяжести.....	76
ГЛАВА V. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ.....	84
§.5.1. Частота распределения полиморфизма генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у новорожденных детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией.....	84
§.5.2. Анализ полиморфизмов генов ИЛ-1 β , TNF- α , ИЛ-10 у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией в зависимости от степени тяжести.....	89
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	102
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	114

ХОДЖИМЕТОВА Ш.Х., РАХМАНКУЛОВА З.Ж., КАМАЛОВ З.С.

**ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКАЯ
ЭНЦЕФАЛОПАТИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ**
(клинические, иммунологические и молекулярно-
генетические аспекты)

Монография

“INNOVATSIYA-ZIYO” nashryoti №363721

2196



Muharrir: Bakirov Nurmuhammad

Bosishga 24.09.2024.da ruxsat etildi.

Bichimi 60x90. “Cambria” garniturasini.

Ofset bosma usulida bosildi.

Shartli bosma tabog'i 9. Nashr bosma tabog'i 8,75.

Adadi 100 nusxa.

*“METODIST NASHRIYOTI” MCHJ matbaa bo'limida chop etildi.
Manzil: Toshkent shahri, Shota Rustaveli 2-vagon tor ko'chasi, 1-uy.*



+99893 552-11-21

Nashriyot rozilgisiz chop etish taqiqlanadi.