

## МЕДИАТОРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С РЕСПИРАТОРНЫМ ДИСТРЕССОМ

© Левченко Л.А.<sup>1</sup>, Клименко Т.М.<sup>2</sup>, Хмелевская И.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Кафедра педиатрии Курского государственного медицинского университета, Курск;

<sup>2</sup> Кафедра неонатологии Харьковской медицинской академии последипломного образования,  
Харьков, Украина  
E-mail: [KhmlG@yandex.ru](mailto:KhmlG@yandex.ru)

Исследовали основные медиаторы эндотелиальной дисфункции (оксид азота и эндотелин-1) у недоношенных новорожденных с дыхательными расстройствами: I группа – 90 детей с внутриутробной пневмонией, II группа – 90 больных с респираторным дистресс-синдромом, III группа – 90 пациентов с сочетанием внутриутробной пневмонии и респираторного дистресс-синдрома. Контрольную группу составили 30 «условно» здоровых недоношенных. У обследуемых наиболее низкий уровень оксида азота в пуповинной крови был в группе недоношенных с сочетанием внутриутробной пневмонии и респираторного дистресс синдрома ( $24,0 \pm 2,9$  микроМ/л) и респираторным дистрессом ( $25,7 \pm 5,8$  микроМ/л), ( $p < 0,05$ ). Наиболее высокое содержание эндотелина-1 в пуповинной крови было у недоношенных тех же групп:  $4,13 \pm 0,69$  фМоль/мл и  $3,02 \pm 0,28$  фМоль/мл соответственно ( $p < 0,05$ ). На 7-е сутки уровень оксида азота венозной крови увеличился в 2 раза по сравнению с содержанием его в пуповинной крови, а уровень эндотелина-1 в венозной крови снизился. Полученные данные подтверждают наличие персистирующей легочной гипертензии у недоношенных новорожденных с заболеваниями легких.

**Ключевые слова:** дыхательные расстройства, недоношенные, эндотелиальная дисфункция.

### MEDIATORS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PREMATURE NEWBORNS WITH RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME

*Levchenko L.A.<sup>1</sup>, Klimenko T.M.<sup>2</sup>, Khmelevskaya I.G.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Pediatrics Department of Kursk State Medical University, Kursk;

<sup>2</sup> Neonatology department of Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkov, Ukraine

The main mediators of endothelial dysfunction (nitrogen oxide and endothelin-1) in premature newborns with respiratory disorders were researched: I group – 90 infants with congenital pneumonia, II group – 90 infants with respiratory distress syndrome, III group – 90 patients with congenital pneumonia and respiratory distress syndrome. The control group involved 30 'conditionally' healthy premature infants. The lowest level of nitrogen oxide in cord blood was in the group of examined premature with congenital pneumonia and respiratory distress syndrome ( $24.0 \pm 2.9$  microM/l) and respiratory distress syndrome ( $25.7 \pm 5.8$  microM/l), ( $p < 0.05$ ). The highest content of endothelin-1 in cord blood was in premature with congenital pneumonia and respiratory distress syndrome:  $4.13 \pm 0.69$  fMole/mL and  $3.02 \pm 0.28$  fMole/mL respectively ( $p < 0.05$ ). On the 7<sup>th</sup> day of life the level of nitrogen oxide in venous blood increased twice in comparison with that in the cord blood. The level of endothelin-1 in venous blood became less as opposed to cord blood. These findings confirm the presence of long-lasting pulmonary hypertension in premature newborns with pulmonary disease.

**Keywords:** respiratory disorders, premature newborns, endothelial dysfunction.

У новорожденных детей при тяжелых заболеваниях легких с прогрессирующим ухудшением оксигенации, развитием патологического ацидоза, происходит и изменение концентрации вазоактивных медиаторов с последующим стойким спазмом сосудов и развитием высокого легочного сосудистого сопротивления – легочная гипертензия [10, 12, 16]. Тонус легочных сосудов регулируется сложными комплексными процессами, где основу составляет баланс между действием констрикторов и дилататоров [7, 22, 23]. Нарушение функции эндотелия проявляется дисбалансом между продукцией вазодилатирующих, ангиопротективных, антипролиферативных факторов (NO, тканевой активатор плазминогена, простаглицлин, С-тип натрийуретического пептида, эндотелиальным гиперполяризующим фактором) и вазоко-

нстриктивных, протромботических, пролиферативных факторов (эндотелин-1, тромбоксан A<sub>2</sub>, супероксид-анион, ингибитор тканевого активатора плазминогена) [15, 17, 24].

Персистирующая легочная гипертензия (персистирующее фетальное кровообращение) – это синдром, для которого характерна выраженная легочная гипертензия, с последующим праволевым внутрисердечным шунтированием крови и развитием гипоксемии. Шунтирование происходит через открытый артериальный проток и/или овальное окно при отсутствии сопутствующих пороков сердца [11, 18, 26].

Персистирующая легочная гипертензия (ПЛГ) при внутриутробной пневмонии (ВУП) возникает у 20% новорожденных, а при респираторном дистресс-синдроме (РДС) у 5% [1, 19, 23]. Частота

ПЛГ варьирует от менее 1 до более 6 случаев на 1000 живорожденных между клиническими центрами. При этом летальность от данной патологии, несмотря на лечение, составляет 10–20% [6, 9, 14].

Существующий пробел в изучении персистирующей легочной гипертензии у недоношенных новорожденных с респираторным дистрессом явился причиной изучения нами баланса основных медиаторов крови, влияющих на тонус гладко-мышечной мускулатуры сосудистой стенки: оксида азота (уровень метаболитов азота  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  ( $\text{NO}_x$  = нитриты + нитраты) и эндотелина-1 (ЭТ-1).

Цель работы заключалась в изучении уровня основных медиаторов эндотелиальной дисфункции у недоношенных новорожденных с респираторными расстройствами: внутриутробной пневмонией, респираторным дистресс-синдромом и внутриутробной пневмонией в сочетании с респираторным дистресс-синдромом.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ретроспективно неселективно проанализировано 300 историй болезней недоношенных новорожденных, имеющих респираторные расстройства с 1-х суток жизни (гестационный возраст от 22 до 36 недель). Из них: I группа – 90 детей с ВУП, II группа – 90 недоношенных новорожденных с РДС, III группа – 90 пациентов с ВУП+РДС. Всем проводилась респираторная поддержка и по показаниям – заместительная терапия экзогенными сурфактантами. Контрольную группу составили 30 «условно» здоровых недоношенных детей, находящихся на совместном пребывании и получавших грудное кормление по требованию.

Эндотелин-1 является наиболее изученным и мощным из всех известных вазоконстрикторов, синтезируемых клетками эндотелия [12, 20, 28]. Уровень ЭТ-1 (фМоль/мл) в крови новорожденного ребенка (пуповинной крови и на 7-е сутки жизни) определяли методом иммуноферментного анализа с использованием стандартного набора реактивов «Biomedica» (Австрия) на аппарате «Labsystems Multiskan Ascent» (Финляндия) в ла-

боратории фундаментальных исследований ИНВХ им. В.К. Гусака АМН Украины (г. Донецк).

NO (оксид азота) – снижение его синтеза является основным в развитии дисфункции эндотелия [21, 25]. Методика определения метаболитов оксида азота приводилась по автору И.А. Киселик, расчёт осуществляли по стандартной кривой [4].

Статистическая обработка данных проводилась средствами прикладной программной системы «Statistica» [5]. Достоверность отличий между группами определяли с помощью t-критерия Стьюдента, а для выборок с ненормальным распределением применяли U-тест Манна-Уитни [3]. Корреляционный анализ проводили по методу Спирмена [3].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень медиаторов эндотелиальной дисфункции в крови зависит от продолжительности и тяжести внутриутробной гипоксии, патологического ацидоза, тяжести дыхательных расстройств, качества респираторной поддержки, сопутствующей патологии, степени недоношенности и зрелости организма [6, 12].

Учитывая вышеизложенные факторы риска, у недоношенных новорожденных с дыхательными расстройствами (ВУП, РДС и ВУП+РДС) и у детей в контроле был исследован уровень оксида азота и эндотелина-1 в пуповинной крови. Данные представлены в таблице 1.

Анализ полученных результатов позволил установить, что у больных новорожденных имелось достоверное снижение уровня оксида азота в пуповинной крови ( $p < 0,05$ ). Наиболее низким он был в группе недоношенных новорожденных с ВУП+РДС и РДС (табл. 1). Так, у детей с ВУП+РДС по сравнению с контролем зафиксировано его снижение в 1,5 раза. Причем в этой же группе были самые низкие оценки по шкале Apgar на 1-й и 5-й минутах жизни ( $3,26 \pm 0,37$  и  $4,5 \pm 0,46$  соответственно) и наиболее тяжелые дыхательные расстройства – оценка по шкале Downes составила  $7,29 \pm 0,59$  балла.

Таблица 1

Содержание оксида азота и эндотелина-1 в пуповинной крови у недоношенных новорожденных с респираторным дистрессом, (M±m)

Показатель	Контроль	ВУП	РДС	ВУП+РДС
Оксид азота, микроМ/л	36,3±3,4	29,1±4,3	25,7±5,8*	24,0±2,9*
Эндотелин-1, фМоль/мл	1,3±0,19	2,17±0,16*	3,02±0,28*	4,13±0,69*

Примечание: в этой и последующей таблице «\*» обозначает достоверность различий величин по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ).

Содержание оксида азота и эндотелина-1 в крови  
у недоношенных новорожденных с респираторным дистресс синдромом на 7-е сутки жизни ( $M \pm m$ )

Показатель	Контроль	ВУП	РДС	ВУП+РДС
Оксид азота, микроМ/л	47,2±5,3	32,8±5,9*	42,4±5,8	37,6±6,5*
Эндотелин-1, фМоль/мл	0,62±0,08	1,46±0,29*	0,98±0,24	1,28±0,47*

Согласно литературным данным [1, 7], чем больше выражен патологический сдвиг крови в сторону ацидоза, тем более выражено снижение уровня оксида азота. В нашем исследовании наиболее тяжелый ацидоз наблюдался в группах недоношенных новорожденных с ВУП+РДС и РДС и в этих же группах детей была самая низкая концентрация оксида азота в крови.

Полученные нами результаты совпадают с результатами публикаций по изучению данного медиатора у условно здоровых детей [8, 13]: в плазме суммарный уровень метаболитов азота  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  ( $\text{NO}_x =$  нитриты + нитраты) составляет 27,3 (24,3–30,3) микроМ/л или 33,9±15,3 микроМ/л. Однако в литературных данных отсутствует информация об исследовании оксида азота у недоношенных новорожденных с дыхательными нарушениями (ВУП, РДС и ВУП+РДС), что добавляет актуальность изучения данной темы.

Количественное содержание эндотелина-1 (ЭТ-1) в пуповинной крови отражает уровень эндотелиальной дисфункции в группах обследуемых недоношенных новорожденных [19, 22, 27]. Наиболее выраженные сдвиги выявлены также в группе недоношенных новорожденных с ВУП+РДС и РДС ( $p < 0,05$ ). По сравнению с контролем у них наблюдалось увеличение показателя ЭТ-1 в 3 раза. Именно у этих больных был более выражен ацидоз, они имели более низкую оценку по шкале Апгар, наиболее низкую концентрацию оксида азота и т.д. Нужно учитывать, что у данных недоношенных новорожденных в большинстве случаев имелся недостаток сурфактанта вследствие незрелости легких. Согласно литературным данным известно, что в момент родового акта включаются компенсаторные возможности организма, в виде выброса биологически активных веществ, стимулирующих выработку сурфактанта: сывороточные липопротеины, эндотелин, вазопрессин и др. [1, 28].

Следовательно, повышение эндотелина-1 в пуповинной крови, можно рассматривать и как приспособительный механизм в активизации выработки собственного (эндогенного) сурфактанта у недоношенных новорожденных.

Установлена обратная корреляционная зависимость между содержанием оксида азота и эндотелина-1 в пуповинной крови ( $r = -0,45$ ), что подтверждает зависимость: чем выше уровень

оксида азота в крови, тем ниже уровень эндотелина-1, и наоборот.

Результаты исследования в динамике на 7-е сутки жизни у недоношенных новорожденных с ВУП, РДС, ВУП+РДС и в контроле показали, что уровень оксида азота венозной крови в группах увеличился в 2 раза по сравнению с первоначальным его содержанием в пуповинной крови (табл. 2).

Уровень эндотелина-1 на 7-е сутки жизни недоношенных новорожденных в обследуемых группах уменьшился по сравнению с его концентрацией в пуповинной крови ( $p < 0,001$ ). Динамика показателей оксида азота и эндотелина-1 отражает адаптационные возможности организма ребенка на фоне адекватной респираторной поддержки, этиопатогенетической и симптоматической терапии.

Обращает внимание, что на 7-е сутки жизни уровень эндотелина-1 в венозной крови по сравнению с пуповинным меньше в группах больных детей: ВУП в 1,5 раза, РДС в 3,0 раза и ВУП+РДС в 3,2 раза. Следовательно, более значимое падение эндотелина-1 в крови среди групп недоношенных новорожденных с дыхательными нарушениями наблюдалось у детей с РДС и ВУП+РДС, т.е. в группе детей, в большинстве случаев после рождения получавших эндотрахеально сурфактант с профилактической или лечебной целью, что подтверждает литературные данные о положительном влиянии сурфактанта [2, 29] на нормализацию вентиляционно-перфузионных отношений (снижение поверхностного натяжения и поддержка альвеолярной стабильности), уменьшение вазоконстрикции легочных сосудов, предотвращение альвеолярного отека и др. Следовательно, отмечается положительное влияние экзогенного введения сурфактанта на уровень вазоконстрикторов (эндотелина-1), а значит, и снижения степени выраженности легочной гипертензии.

Установлена обратная корреляционная зависимость между содержанием оксида азота и эндотелина-1 в крови на 7-е сутки жизни ( $r = -0,61$ ). Рассчитана обратная корреляция между уровнем оксида азота в сыровотке пуповинной и на 7-е сутки крови:  $r = -0,57$  ( $p < 0,05$ ). Чем меньше оксид азота в пуповинной крови, тем больше его содержание в крови на 7-е сутки. Аналогичная

обратная корреляция выявлена между содержанием эндотелина-1 в пуповинной крови и на 7-е сутки:  $r = -0,44$  ( $p < 0,05$ ). Чем выше содержание данного медиатора в пуповинной крови, тем меньше его уровень в крови на 7-е сутки.

В ходе исследования была выявлена зависимость: чем меньше гестационный возраст ребенка, тем в пуповинной крови ниже уровень оксида азота, а уровень эндотелина-1 выше. Следовательно, клиническое течение легочной гипертензии у глубоко недоношенных новорожденных тяжелее. Выявлена корреляция между содержанием в пуповинной крови NO и ГВ ( $r = 0,71$ ), ЭТ-1 и ГВ ( $r = -0,65$ ), ( $p < 0,05$ ). Чем меньше ГВ, тем ниже содержание оксида азота и выше уровень эндотелина-1 в пуповинной крови.

Выявлены корреляции следующих показателей венозной крови на 7-е сутки жизни: для оксида азота и ГВ  $r = -0,51$  и для эндотелина-1 и ГВ  $r = 0,62$ , ( $p < 0,05$ ). Чем меньше ГВ, тем быстрее (вероятно на фоне лечения) увеличивается уровень оксида азота и уменьшается уровень эндотелина-1.

Полученные лабораторные показатели оксида азота и эндотелина-1 сравнивались с наличием легочной гипертензии, которая определялась доплерографическим исследованием сердечной гемодинамики. Степень выраженности ПЛГ в данном исследовании не бралась во внимание. В первые трое суток жизни в группе ВУП она установлена у 77,8% новорожденных, у 83,3% детей с РДС и у всех обследуемых в группе ВУП+РДС.

Таким образом, у большинства недоношенных новорожденных с дыхательными расстройствами (ВУП, РДС и ВУП+РДС) подтверждено наличие ПЛГ не только инструментальным методом, но и лабораторным. Установлены значимые отклонения от нормы соответствующих уровней основных медиаторов крови – оксида азота и эндотелина-1, которые не только обусловлены влиянием ряда патологических процессов на организм недоношенного ребенка, а возможно, и включением приспособительных механизмов, направленных на стимуляцию адаптационных возможностей к внеутробному существованию.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Баженов Д.В., Иванов С.Л., Мельне И.О.* Респираторный дистресс у новорождённых / под ред. М.В. Фомичева – СПб., 2007. – 482 с.
2. *Гублер Е.В.* Вычислительные методы анализа и распознавание патологических процессов. – М.: Медицина, 1987. – 294 с.
3. *Добрянський Д.О., Новікова О.В., Салабай З.В.* Багатоцентрове дослідження порівняльної клінічної ефективності препаратів екзогенного сурфактанту "Неосурф" і "Куросурф" у лікуванні респираторного дистрес-синдрому у недоношених новонароджених // *Современная педиатрия.* – 2010. – № 2. – С. 164-169.
4. *Киселик И.А., Луцыйк М.Д., Шевченко Л.Ю.* Особенности определения нитратов и нитритов в крови больных вирусными гепатитами и желтухами другой этиологии // *Лабораторная диагностика.* – 2001. – № 3. – С. 43-45.
5. *Лях Ю.Е., Гурьянов В.Г.* Основы компьютерной биостатистики: анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом MedStat. – Донецк, 2006. – 214 с.
6. *Шабалов Н.П.* Неонатология: Российское национальное руководство: учебник – М.: МЕДпресс., 2007. – 749 с.
7. *Benjamin A.C., Silveria R.C., Procianoy R.S.* Umbilical cord blood and neonatal endothelin-1 levels in preterm newborns with and without respiratory distress syndrome // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2005. – Vol. 38, N 9. – P. 1417-1422.
8. *Biban P., Zangardi T., Baraldi E.* Mixed exhaled nitric oxide and plasma nitrites and nitrates in newborn infants // *Life Sci.* – 2001. – Vol. 68, N 25. – P. 2789-2797.
9. *Chambers D.Ch., Hernandez-Diaz S., Van Marter L.J.* Selective Serotonin-Reuptake Inhibitors and Risk of Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn // *New Engl. J. Med.* – 2006. – Vol. 354, N 6. – P. 579-587.
10. *Cosentino F., Luscher T.F.* Endothelial dysfunction in hypertension: manual. – Milano, 2003. – 52 p.
11. *Dakshinamurti S.* Pathophysiologic mechanisms of persistent pulmonary hypertension of the newborn // *Paediatr. Pulmonol. Suupl.* – 2005. – Vol. 39, N 6. – P. 492-503.
12. *Endo A., Ayusawa M., Minato M.* Endogenous nitric oxide and endothelin-1 in persistent pulmonary hypertension of the newborn // *Eur. J. Pediatr.* – 2001. – Vol. 160, N 4. – P. 217-222.
13. *Figueras-Aloy J., Gijmez L., Rodryjguez-Migujqlez J.M.* Plasma nitrite/nitrate and endothelin-1 concentrations in neonatal sepsis // *Acta Paediatr.* – 2003. – Vol. 92, N 5. – P. 582-587.
14. *Hernandez-Diaz S.* Risk factors for persistent pulmonary hypertension of the newborn // *Pediatrics.* – 2007. – Vol. 120, N 2. – P. e272-e282.
15. *Hlubocka Z., Umnerova V., Heller S.* Circulating intercellular cell adhesion molecule – 1, endothelin – 1 and von Willebrand factor-markers of endothelial dysfunction in uncomplicated essential hypertension: the effect of treatment with ACE inhibitors // *J. Hum. Hypertens.* – 2002. – Vol. 16, N 8. – P. 557-562.
16. *Kecskes Z.B., Davies M.V.* Rapid correction of early metabolic acidaemia in comparison with placebo, no intervention or slow correction in LBW // *Cochrane Database of Systematic Reviews.* – 2002. – Issue 1. – CD002976.
17. *Klingbeil A.U., John S., Schneider M.P.* Effect of AT – 1 receptor blockade on endothelial function in essential hypertension // *Am. J. Hypertens.* – 2003. – Vol. 16, N 2. – P. 123-128.

18. *Konduri G.* New approaches for persistent pulmonary hypertension of newborn // *Clin. Perinatol.* – 2004. – Vol. 31, N 1. – P. 225-228.
19. *Kumar P., Kazzi N.J., Shankaran S.* Plasma immunoreactive endothelin-1 concentrations in infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn // *Am. J. Perinatol.* – 1996. – Vol. 13, N 6. – P. 335-341.
20. *Kuo C.Y., Chou Y.H., Lien R.* Study of plasma endothelin-1 concentrations in Taiwanese neonates with respiratory distress // *Chang. Gung. Med. J.* – 2001. – Vol. 24, N 4. – P. 239-244.
21. *Lowson S.* Inhaled alternatives to Nitric Oxide // *Anesthesiology.* – 2002. – Vol. 96, N 6. – P. 1504.
22. *Malamitsi-Puchner A., Economiu E., Sevastuadou S.* Endothelin 1-21 plasma levels on the first and fourth postpartum day in normal full-term neonates // *Dev. Pharmacol. Ther.* – 1993. – Vol. 20, N 3-4. – P. 195-198.
23. *Ng C., Franklin O., Vaidya M.* Adenosine infusion for the management of persistent pulmonary hypertension of the newborn // *Pediatr. Crit. Care Med.* – 2004. – Vol. 5, N 1. – P. 10.
24. *Rosenberg A.A., Kennaugh J., Koppenhafer S.L.* Elevated immunoreactive endothelin-1 levels in newborn infants with persistent pulmonary hypertension // *J. Pediatr.* – 1993. – Vol. 123, N 1. – P. 109-114.
25. *Schreiber M., Dixit R., Hipps R.* Direct comparison of the effects of nebulized nitroprusside versus inhaled nitric oxide on pulmonary and systemic hemodynamics during hypoxia-induced pulmonary hypertension in piglets // *Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 30, N 11. – P. 2560.
26. *Skinner J.* Diagnosis of patent ductus arteriosus // *Semin. Neonatal.* – 2001. – Vol. 6, N 1. – P. 49-61.
27. *Tekin N., Dinleyici E.C., Aksit M.A.* Plasma and urinary endothelin-1 concentrations in asphyxiated newborns // *Neuro. Endocrinol. Lett.* – 2007. – Vol. 28, N 3. – P. 284-288.
28. *Truog W.E., Pallotto E., Clark P.* Interaction of endogenous endothelin-1 and inhaled nitric oxide in term and preterm infants // *Clin. Sci. (Lond).* – 2002. – Vol. 103, N 48. – P. 294S-297S.
29. *Wang X., Sun Z., Qian L.* Effects of hyaluronan-fortified surfactant in ventilated premature piglets with respiratory distress // *Biol. Neonate.* – 2006. – Vol. 89, N 1. – P. 15-24.