

проведены единичные исследования, подтверждающие связь ВПГ с развитием НЛН в связи с чем нами предпринята попытка выявить связь ВПГ 1-го и 2-го типа с развитием НЛН у детей.

Цель исследования – уточнение клинико-этиологических особенностей формирования НЛН у детей. Для решения поставленной задачи нами использовались анализ анамнестических сведений, данные клинического осмотра и результаты исследования слюны на обнаружение ДНК ВПГ 1-го и 2-го типов. Выбор данной методики вирусологического обследования был не случаен. Основываясь на том, что реактивация ВПГ-1 в коллатеральном или тригеминальном ганглии сопровождается поражением лицевого нерва, то, спускаясь по *chorda tympani* или тригеминальным волокнам, он может обнаружиться в слюне в остром периоде НЛН [10]. Поэтому неоднократно предпринимались попытки обнаружения ДНК ВПГ в слюне больного в остром периоде НЛН.

Результаты. Нами наблюдалось 40 детей с острой НЛН: 23 девочки и 17 мальчиков (57,5% и 42,5% соответственно). 32 ребенка (80%) были в возрасте от 12 до 17 лет, средний возраст этой группы составил $13,93 \pm 1,86$ лет. 8 детей (20%) были в возрасте от 1 года до 8 лет, возраст этой группы составил $4,4 \pm 2,1$ года. Средний день обращения за медицинской помощью составил $4,7 \pm 4,3$. Среди заболевших у 6 детей (15%) в анамнезе уже была НЛН. Среди провоцирующих факторов у 20 человек (50%) накануне отмечалось переохлаждение, 13 человек (32,5%) отмечали в анамнезе наличие явлений ОРВИ, 3 (7,5%) человека в качестве провоцирующей причины называли стрессирование, у 4 детей (10%) НЛН развилась на фоне полного благополучия.

Непосредственную причину НЛН нам удалось выявить лишь в трех случаях: травматическое повреждение (укус собаки), отогенного происхождения и в одном случае был диагностирован синдром Рамзеля – Ханта. Во всех остальных случаях был диагностирован идиопатический ПБ.

Таблица 1

Степень пареза мимической мускулатуры при поступлении определяли по классификации К.М. Rosler (1995)

0 степень	Парез отсутствует.
I степень	Легкий парез, асимметрия лица в покое отсутствует.
II степень	Умеренный парез, зажмуривание глаза возможно, но в покое отчетливо выявляется асимметрия лица
III степень	Тяжелый парез, неполное зажмуривание глаза, едва заметные движения и низкий мышечный тонус.
IV степень	Полный паралич, отсутствие движений и низкий мышечный тонус.

Согласно используемой классификации, у 7 человек (17,5%) отмечалась IV степень пареза у 27 детей (67,5%) – III степень пареза, у 6 (15%) – II степень пареза. В зависимости от уровня поражения лицевого нерва (ЛН) имело место несколько топических вариантов заболевания. Всегда выявлялись нарушения произвольных мимических движений в гомолатеральной половине лица с выпадением или снижением рефлексов, двигательной частью дуги которых является ЛН (надбровный, конъюнктивальный, подбородочный). В клинической картине заболевания мы также наблюдали нарушение вкуса на передних 2/3 языка, сухость глаза у 2-х детей (5%), что соответствовало поражению ЛН выше N. Stapedius. Были выявлены нарушение вкуса и слезотечение, что соответствует поражению ЛН дистальнее отхождения N. Stapedius у 9 детей (22,5%). В остальных случаях у 29 детей (72,5%) отмечалось поражение ЛН в нижнем отделе фаллопиевого канала вблизи шилососцевидного отверстия.

У 25 детей (62,5%) отмечались болевые феномены в области лица, преимущественно в околоушной области, в области скулы или щеки. У 14 детей (35%) мы наблюдали мышечные подергивания в области круговой мышцы глаза накануне либо в начале заболевания. Вирусологическое исследование проводилось у 17 детей (6 мальчиков и 11 девочек в возрасте от 2-х до 16 лет в возрасте $10,4 \pm 4,5$ с идиопатической НЛН. Определялась ДНК ВПГ 1-го и 2-го типов методом ПЦР в режиме реального времени в слюне. Слюна исследовалась с 1-ого по 7-ой день болезни. У 3-х детей с НЛН нам удалось обнаружить ДНК ВПГ 1-го типа в клиническом материале. Это были дети в возрасте 2, 6, 13 лет. У 2-х пациентов накануне заболевания отмечались симптомы ОРВИ, сопровождающиеся общим недомоганием, катаральным ринитом, легкой гиперимией зева. Пациент 13 лет накануне заболевания отмечал общее переохлаждение. Ни у одного из трех пациентов клинических проявлений герпетической инфекции при первичном осмотре нам выявить не удалось. У 2-х детей

отмечалось тяжелое поражение лицевого нерва (III-IV) степень по шкале Rosler 1995. У одного ребенка (6 лет) клинически определялась II степень поражения. После проведения лечения кортикостероидными средствами (преднизолон в дозе 1мг на 1 кг веса по стандартной схеме), а также сосудистого и противовирусного лечения (ацикловир 200 мг 5 раз в сутки) через 3 недели у одного ребенка отмечалось практически полное выздоровление. У 2-х пациентов с изначально тяжелой степенью пареза сохранялись стойкие признаки прозопагеа.

Выводы. НЛН встречается в 80% случаев у детей в возрасте от 12 до 17 лет. Гендерных различий не выявлено. В половине случаев НЛН в анамнезе переохлаждение, у каждого третьего – ОРВИ. У 67% больных выявляется III клиническая степень пареза, соответствующая неполному зажмуриванию глаз с едва заметными движениями мимической мускулатуры. В 72% клиническая картина соответствовала поражению нерва в нижнем отделе фаллопиева канала. В 62% отмечались болевые феномены в области лица. Частой этиологической формой НЛН является идиопатическая НЛН, на долю которой приходится 92,5%. В 16% случаев причиной идиопатической НЛН является ВПГ 1-го типа.

Литература

1. Анохин В.А. // Казанский мед. ж. – 1999. – №2. – С. 127–130.
2. Деконенко Е.П. // Рос. мед. ж. – 2002. – №4. – С. 46–49.
3. Деконенко Е.П. и др. // Ж. неврологии и психиатрии. – 2000. – № 6. – С. 58–59.
4. Львова О.А. // Педиатрия (Спец. выпуск для врачей). – 2006. – № 1. – С. 17.
5. Скрипченко Н.В. и др. // Мат-лы 1-го Балтийского конгр. по детской неврол. – СПб, 2007. – С. 144–145.
6. Степанченко М.А. и др. // Тез. Докл. Всерос. съезда неврол. – Ярославль, 2006. – С. 289–290.
7. Харламова Ф.С. // Детские инф. – 2006. – №3. – С. 3–10.
8. Dhiravibulya K. // J Med Assoc Thai. – 2002. – Vol. 85. – P. 34.
9. Evans A.K. et al. // Int J Pediatr Otorhinolaryngol. – 2005. – Vol. 69. – P. 1521–1528.
10. Futura Y. et al. // J Med Virol. – 1998. – Vol. 54. – P. 162–166.
11. Kawaguchi K. et al. // Laryngoscope. – 2007. – Vol. 117. – P. 147–56.
12. Lasarini P.R. // Bras. Otorhinolaryngol. – 2006. – Vol. 72. – P. 7–11.
13. Ogita S. et al. // Pediatr Int. – 2006. – Vol. 48. – P. 245–249.
14. Wakisaka H. et al. // Exp Neurol. – 2002. – Vol. 178. – P. 68.

УДК 535.379: 616-053.31-07

ПРИМЕНЕНИЕ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ В НЕОНАТОЛОГИИ

Л.Д. ПАНОВА*

Ключевые слова: неонатология, хемилюминесцентные методы

В последние годы отмечается интерес к выяснению общих закономерностей и молекулярных механизмов развития перинатальной патологии. Многие физиологические и метаболические процессы, протекающие в организме ребенка и взрослого, связаны со свободно-радикальным окислением (СРО) [1–3]. Скорость СРО и определенный уровень свободных радикалов в организме поддерживается многоступенчатой системой регуляции [4]. При неблагоприятных факторах внешней среды, метаболическом превращении вводимых в организм лекарственных препаратов и окислении чужеродных соединений, при патологии, скорость СРО и содержание свободных радикалов в тканях и органах изменяется [5, 6]. В этом случае нарушение СРО становится неспецифической причиной и молекулярной основой патогенеза различных заболеваний, причем изменение процесса СРО в организме предшествует появлению симптомов заболевания [7].

Нестабильность радикалов, быстрый распад и включение в метаболизм продуктов окисления предъявляют повышенные требования к методам исследования. Они должны иметь высокую чувствительность, надежность, быть удобны в эксплуатации, просты, доступны и нетрудоемки, исключать возможность изменения СРО во время приготовления материала к анализу.

Перспективным способом изучения СРО является регистрация сверхслабого свечения, возникающего при взаимодействии радикалов. С помощью хемилюминесцентных методов удается

* Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

выявить реакционно-способные короткоживущие радикалы, которые иными способами не регистрируются [8]. Хемилюминесценция (ХЛ) сопровождается свободно-радикальные реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ) и образования активных форм кислорода (АФК). О широких возможностях использования ХЛ в научной и практической работе свидетельствуют материалы исследований, регулярно излагаемые на Международных конференциях и в публикациях, однако данные об использовании данного метода в неонатологии малочисленны [9–11].

Цель исследования – обобщение опыта применения ХЛ-методов исследования в неонатологии.

Материалы и методы. Методом хемилюминесценции изучалось СРО фагоцитирующих клеток крови и функциональное состояние почек новорожденных с перинатальными нефропатиями на фоне инфекционной патологии, а также влияния различных препаратов, применяемых при лечении перинатальных инфекций и нефропатий на процессы СРО in vitro.

В клинической части работы основную группу составили 316 новорожденных детей с инфекционно-воспалительными заболеваниями (ИВЗ), находившихся на лечении в неонатальном центре РДКБ г.Уфы, имевших сопутствующие заболевания органов мочевой системы (ОМС). Критерии включения в основную группу: наличие ИВЗ в сочетании с перинатальной патологией почек, согласие родителей с учетом этических аспектов проведения испытаний с участием детей. Критерии исключения из основной группы: отсутствие ИВЗ, отсутствие перинатальной патологии почек, несогласие родителей. В зависимости от характера патологического процесса в почках новорожденные основной группы были распределены на 6 подгрупп. В 1-ю подгруппу включены 49 новорожденных с ИВЗ ОМС, во 2-ю – 36 младенцев с дисметаболической нефропатией (ДМН), в 3-ю – 31 ребенок с гипоксической нефропатией (ГН), в 4-ю – 30 детей с интерстициальным нефритом (ИН), в 5-ю – 14 новорожденных с развитием острой почечной недостаточности (ОПН) и в 6-ю подгруппу – 156 детей с врожденными пороками развития почек.

В группу сравнения с учетом принципов доказательной медицины включено 217 младенца из неонатального центра с различными ИВЗ, но без патологии ОМС. Контрольную группу, сформированную методом случайной выборки, составили 44 здоровых доношенных новорожденных из физиологического отделения родильного дома, родившихся от здоровых матерей без осложненного течения беременности и родов. Наряду с традиционными общепринятыми методами исследования функций почек и иммунологического статуса (общеклинические и биохимические показатели крови и мочи, УЗИ почек с доплерографией, структуропостроение мочи с Литос-регентом, иммунограмма и другие) проводилось ХЛ-исследование крови и мочи.

Сверхслабое свечение мочи изучали в межвузовской лаборатории технических систем медико-экологических исследований Башкирского ГМУ и Уфимского государственного авиационного технического университетов на установке для регистрации хемилюминесценции (ХЛ-003) [12]. Методика определения ХЛ мочи была модифицирована нами для изучения состояния почек у новорожденных. Ее суть: отбирали пробу утренней мочи в объеме 10 мл, помещали в светонезащищенную камеру прибора, в течение одной минуты регистрировали темновой ток, затем открывали шторку прибора и одну минуту измеряли спонтанное свечение мочи. Для иницирования реакций, сопровождающихся ХЛ, к пробе добавляли при постоянном перемешивании 0,5 мл раствора сернокислого железа. Индуцированное свечение измеряли в течение 5 минут. Вся процедура исследования ХЛ мочи занимала не более 5-7 минут. Светосумму свечения мочи определяли как площадь под кривой записи ХЛ в 1 см² и выражали в условных единицах. Величина спонтанного свечения (Сп) характеризовала интенсивность процессов СРО в естественных условиях, амплитуда быстрой вспышки (А) зависела от содержания перекисных продуктов в моче, а светосумма свечения (S) являлась интегральным показателем, зависящим от состояния концентрации и выделительной функций почек.

Исследование **люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) цельной крови** проводилось на том же приборе по стандартной методике [13]. Рассчитывали максимальную амплитуду свечения (Асп) в усл.ед. и светосумму (S). Величина пика ХЛ зависит от фагоцитарной активности клеток, а светосумма является интегральным показателем генерации АФК. Интенсив-

ность ХЛ в присутствии люминола коррелирует с потреблением клетками кислорода и степенью завершенности фагоцитоза [3]. Для изучения функционального резерва фагоцитирующих клеток крови, связанного с кислород-зависимыми процессами, регистрировали стимулированную зимозаном ЛЗХЛ крови. Для оценки емкости резерва функциональной активности фагоцитов крови применяли формулу: $ФЕФ = (Аст - Асп) / Асп$, где Асп – амплитуда спонтанной ХЛ, Аст – амплитуда стимулированной ХЛ.

Для традиционной оценки состояния ПОЛ проводилось изучение содержания малонового диальдегида (МДА) в крови по определению конечных продуктов липопероксидации (ТБК-активных продуктов ПОЛ).

Экспериментальная часть работы заключалась в исследовании влияния ряда препаратов, применяемых для лечения ИВЗ (антибиотики различных групп) и патологии ОМС (ксидифон, тиосульфат натрия), а также БАД лецитина на процессы СРО в модельных системах, генерировавших АФК и в субстратах, в которых протекали реакции ПОЛ. Были использованы следующие антибиотики: полусинтетические пенициллины третьего поколения – амоксициллин/клавулановая кислота (амоксициллин на тригидрат с клавулановой кислотой калиевая соль), макролиды первого (эритромицин) и нового поколения – вильпрафен (джозамицин), цефалоспорины 1-го поколения – цефазолина натрия соль, цефалоспорины 2-го поколения – цефуроксима натрия соль, цефалоспорины 3-го поколения – цефтазидим натрия соль, цефоперазона натрия соль, аминогликозиды – гентамицина сульфат, амикацина сульфат, нетилмицина сульфат.

В качестве модели, где генерировались АФК, использовали систему цитрат-фосфат-люминол и фагоцитирующие клетки цельной крови, вырабатывающие АФК в процессе фагоцитоза [14]. Препараты, в концентрациях, соизмеримых с дозой, создаваемой в организме при введении препаратов внутрь, добавляли в цитрат-фосфатный буфер с люминолом. Генерацию АФК инициировали введением раствора сернокислого железа (**модель 1**). Появление радикалов оценивали методом ХЛ.

Дополнительно изучали влияние препаратов на образование АФК в фагоцитирующих клетках нативной гепаринизированной крови новорожденных детей с неонатальной инфекцией и нефропатией, нуждающихся в антибактериальной терапии (**модель 2**). Нарботка АФК фагоцитами сопровождается свечением, которое усиливается в присутствии люминола.

Влияние препаратов на ПОЛ изучали в модельной системе липосом (**модель 3**). При введении ионов железа идет окисление ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов и образуются молекулярные продукты в возбужденном состоянии. При переходе их в основное состояние излучаются кванты света, регистрировавшиеся с помощью хемилюминесцентного метода.

Антиокислительная активность исследуемых веществ определялась по степени угнетения ХЛ в присутствии исследуемых веществ и пересчитывалась в % от контроля по формуле:

$$\frac{[100 - (S_{\text{ХЛ контроль}} - S_{\text{ХЛ с препаратом}})] \times 100\%}{S_{\text{ХЛ контроль}}}$$

Статистическую обработку результатов исследования проводили в операционной среде Windows XP с использованием программы «STATISTICA 6.0».

Результаты. Спонтанное свечение характеризует интенсивность процессов СРО в естественных условиях без вмешательства извне. Амплитуда быстрой вспышки зависит от содержания перекисных продуктов в моче. Светосумма свечения является интегральным показателем, свидетельствующим о возможности протекания процессов СРО в моче под воздействием инициатора. Параметры свечения мочи с момента рождения и в течение раннего неонатального периода практически не изменялись, несколько увеличивалась интенсивность свечения после переходного периода, оставаясь ниже по сравнению с младенцами и детьми раннего возраста в 10-15 раз. При этом характер ХЛ мочи не зависел от пола новорожденного ребенка. Полученные результаты свидетельствовали о сниженной функциональной активности почек в неонатальном периоде, т.к. установлено, что изменение выделительной функции даже без органических поражений почек отражается на характере ХЛ мочи [14]. Изучение показателей ХЛ мочи у здоровых новорожденных контрольной группы, подтвердили ранее нами полученные результаты интегральных показателей ХЛ мочи, которые были рекомендованы, как нормативные в неонатальном периоде.

Исследование корреляционных связей между указанными переменными ХЛ с определением коэффициента линейной и ранговой корреляции выявило наличие слабой положительной взаимосвязи между светосуммой излучения и амплитудой быстрой вспышки ($r = 0,49$, $p = 0,019$), что свидетельствовало о том, что каждый из показателей является самостоятельным и несет определенную информацию, характеризует различные стороны и механизмы развития свечения. Результаты корреляционного анализа с показателями, характеризующими функцию почек, выявили обратную взаимосвязь интенсивности ХЛ с уровнем мочевины в крови ($r = -0,441$, $p = 0,046$) и лейкоцитурии ($r = -0,436$, $p = 0,048$). Не установлена истинная связь между параметрами свечения и биохимическими показателями мочи, удельным весом мочи. Это связано с тем, что колебания нормальных показателей биохимических исследований крови и мочи в периоде новорожденности значительны, а параметров хемилюминограммы мочи – малы. Светосумма ХЛ мочи коррелировала с концентрационной и выделительной функцией почек.

Таблица 1

Показатели ХЛ мочи у младенцев с перинатальной патологией ОМС

Наблюдаемые группы	Показатели ХЛ мочи, усл.ед. (M ± m)	
	A	S
Контроль (n=44)	12,7±1,4	2,5±0,2
Основная группа (n=316)	1,1±0,3	3,4±0,4
Группа сравнения (n=217)	0,7±0,1	2,2±0,3
p ₁₋₂	<0,05	<0,05
p ₁₋₃	<0,05	>0,05
p ₂₋₃	>0,05	<0,05

Примечание: p₁₋₂ – достоверность различий показателей основной и контрольной групп, p₁₋₃ – достоверность различий показателей контрольной группы и группы сравнения, p₂₋₃ – достоверность различий показателей основной группы и группы сравнения

Как видно из табл.1, у новорожденных детей основной группы в сравнении с группой здоровых детей и с младенцев с ИВЗ по показателям ХЛ мочи установлена достоверная активация процессов СРО в моче. Содержание перекисных продуктов в моче младенцев основной группы было более высоким при сепсисе, чем при локальных формах и пневмониях, о чем свидетельствовало достоверное различие в показателях интенсивности ХЛ мочи ($p < 0,015$). У 85% детей, рожденных от матерей с хроническим пиелонефритом, и у 51% новорожденных на фоне применения нефротоксических антибиотиков (гентамицин, амикацин) с учетом чувствительности микрофлоры выявлено достоверное повышение интенсивности ХЛ мочи ($p < 0,05$). В последующем после углубленного клинико-лабораторного обследования у этих детей была диагностирована перинатальная нефропатия (врожденная и лекарственная). Изменение интенсивности ХЛ мочи предшествовало увеличению клиренса креатинина, мочевины, появлению мочевого и отечного синдромов, что подтверждало высокую чувствительность метода регистрации ХЛ мочи в диагностике перинатальных нефропатий различного генеза. ХЛ мочи изменялась при любой нефропатии, не зависела от нозологической формы. Чувствительность метода составила 92,8%, специфичность – 68,9%, точность – 83,6%.

Метод регистрации ХЛ мочи является информативным, неинвазивным, доступным экспресс-методом оценки функционального состояния почек у новорожденных и может быть рекомендован для применения в неонатологической практике с целью контроля безопасности применения антибиотиков, выявления перинатальных нефропатий на доклинической стадии.

Хемилюминесценция клеток крови. Поскольку одной из причин, приводящих к инфекционной патологии, считают иммунологические нарушения, с целью оценки кислородзависимого метаболизма фагоцитирующих клеток крови, наряду с традиционным иммунологическим обследованием, нами исследовалась ЛЗХЛ крови. Показатели ЛЗХЛ крови в неонатальном периоде имеют возрастные особенности: средние показатели А свечения составляли $1,76 \pm 0,13$ отн.ед., S – $6,13 \pm 0,46$ отн.ед. Корреляционный анализ позволил выявить наличие высокодостоверной зависимости между А быстрой вспышки хемилюминограммы и уровнем конечных продуктов ПОЛ, а также S ХЛ, что подтверждает возможность охарактеризовать состояние ПОЛ в крови. Поскольку в норме ПОЛ и система АОЗ находится в равновесии, поддерживая гомеостаз организма, есть прямая корреляционная зависимость между А и S хемилюминограммы. Не выявлено значимых

корреляций показателей фагоцитоза, НСТ-теста и S ЛЗХЛ, что, согласуясь с данными [3, 12], подтверждает вывод о том, что состояние кислородзависимого метаболизма фагоцитирующих клеток крови является процессом, достоверно регистрируемым с помощью ХЛ крови и требующим целенаправленной коррекции.

Функциональная емкость фагоцитов коррелировала как с А спонтанной и стимулированной ХЛ, так и с S стимулированного свечения, что указывает на возможность изменения функционального резерва фагоцитирующих клеток как результата ускорения генерации активных форм кислорода, так и с ингибированием этого процесса. Обратная корреляционная зависимость между уровнем Ig A и S ЛЗХЛ объясняется особенностями иммунологического статуса новорожденных, а именно физиологическим снижением уровня Ig A. Рост иммуноглобулинов этого класса свидетельствует об антигенной стимуляции организма ребенка на фоне снижения фагоцитарной активности, характерного для бактериальной инфекции.

Таблица 2

Показатели ХЛ ЛЗХЛ крови и конечных продуктов ПОЛ у младенцев с перинатальной патологией ОМС

	Показатели ХЛ крови (M ± m)			ТБК- акт. пр., ед. опт. плотн. (M ± m)
	A	S	ФЕФ	
Контроль (n=44)	1,8±0,13	6,13±0,5	4,05±0,75	0,07±0,001
Основная группа (n=316)	5,02±0,8	18,3±2,9	3,59±0,6	1,26±0,17 n=108
Группа сравн. (n=217)	2,79±0,54	10,4±2,1	3,42±0,64	1,07±0,26
p ₁₋₂	0,012	0,011	> 0,05	0,0001
p ₁₋₃	> 0,05	> 0,05	> 0,05	0,0001
p ₂₋₃	> 0,05	0,045	> 0,05	> 0,05

Примечание: p₁₋₂ – достоверность различий показателей основной и контрольной групп, p₁₋₃ – достоверность различий показателей контрольной группы и группы сравнения, p₂₋₃ – достоверность различий показателей основной группы и группы сравнения.

У новорожденных основной группы в сравнении с группой здоровых детей и младенцев с ИВЗ установлена достоверная активация процессов СРО фагоцитов крови (табл.2). Усиление процессов ПОЛ, выявленное по содержанию вторичных продуктов перекисаации, было характерно для основной группы и группы сравнения. В основной группе содержание ТБК-акт.пр. было повышено в 18 раз, а в группе сравнения – лишь в 15 раз по отношению к контролю. Результаты говорят о том, что интенсификация свободно-радикальных процессов может быть одним из патогенетических звеньев перинатального поражения почек.

Рост интенсивности ЛЗХЛ крови, говорящий об усилении процессов СРО фагоцитов, шел при всех клинических формах нефропатий неонатального периода: в минимальной степени в 1,7 раза по отношению к группе контроля – при ДМН, в 2,6 раза по отношению к группе контроля и в 1,7 раза по отношению к группе сравнения – при ГН и ВПР почек, и максимально в 8,7 раза и 5,8 раз соответственно – при инфекциях ОМС. При инфекциях ОМС установлено статистически значимое выраженное снижение ФЕФ ($-0,75 \pm 0,001$ против $3,4 \pm 0,06$ в группе сравнения и $4,1 \pm 0,08$ в контроле) ($p < 0,05$), что может быть одним из патогенетических звеньев развития этой патологии. Установлены достоверные различия в показателях S ЛЗХЛ крови при инфекциях ОМС, ДМН, ГН и ВПР. Показатели индуцированной ХЛ крови находились в обратной зависимости от степени недоношенности и ЗВУР ($p < 0,05$). Отмечена взаимосвязь между уровнем ТБК-акт.пр., ФЕФ и сепсисом у младенцев ($r = 0,311$, $p = 0,015$ и $r = 0,284$, $p = 0,039$ соответственно). Выявлена прямая корреляционная зависимость между показателями, характеризующими функциональное состояние печени: тимоловой пробы, АЛТ, ГГТ и интенсивностью ЛЗХЛ крови ($r = +0,441$, $p = 0,019$; $r = +0,338$, $p = 0,035$; $r = +0,490$, $p = 0,021$ соответственно). Результаты корреляционного анализа говорят о негативном влиянии ОПН на перекисаацию липидов. Люминолзависимое свечение крови связано с генерацией АФК клетками при фагоцитозе и показало состояние гуморально-клеточного иммунитета. Изменение интенсивности ХЛ предшествует клиническим симптомам заболевания, выявляя ранние стадии нарушения защитно-приспособительных реакций организма, диагностировать состояние предболезни [1, 13].

Хемилюминесценция модельных систем. При проведении экспериментальной части работы интегральным и наиболее информативным показателем ХЛ являлась величина светосуммы свечения (S). При добавлении антибиотиков в той или иной степени уменьшалось свечение по отношению к контролю во

всех субстратах, что подтверждало антиокислительные свойства препаратов (табл. 3). В большинстве случаев с увеличением концентрации препарата не было нарастания угнетения ХЛ в модельных системах 1 и 3. В модели 1 амикацин и цефуроксим почти не изменили значение светосуммы (94,5–96% от контроля). Несколько сильнее подавлял ХЛ цефоперазон (до 72,2%). При добавлении макролидов – эритромицина и джозамицина светосумма уменьшилась в ~2 раза. Резкое угнетение свечения вызвали амоксициллин/квалулановая кислота, цефотаксим в максимальной концентрации и аминогликозиды – гентамицин и нетилмицин. В системе липосом, моделирующей реакции ПОЛ, изменение светосуммы ХЛ было менее выражено, чем в предыдущей.

Таблица 3
Влияние антибиотиков на хемилюминесценцию модельных систем

Препарат	Концентрация, мг/мл	Модель 1 (АФК)		Модель 2 (фагоцитоз)		Модель 3 (ПОЛ)	
		S свечения	% от контроля	S свечения	% от контроля	S свечения	% от контроля
Контроль	0	36±1,7	100	51,7	100	49,8	100
Амоксициллин/квалулановая кислота	0,25 0,1 0,025	5,8±0,06 5,8±0,06 12,8±0,7	16,1* 16,1* 35,5*	46±3,5 — —	89* — —	32,3±1,5 34,1±1,5 35,8±1,7	64,9* 68,5* 71,9*
Эритромицин	0,1 0,05	16,4±0,2 25,8±1,1	45,5 71,7*	— 16,9±0,2	— 32,7*	42,1±2,2 44,1±2,3	84,5* 88,5*
Джозамицин	0,25 0,1 0,05	15,9±0,6 22,0±0,8 22,0±0,8	44,2* 61,1* 61,1*	— 46,1±1,7 —	— 89,2* —	40,1±2,1 44,2±2,6 —	80,5* 84,3* —
Цефазолин	0,1 0,05	12,8±0,7 27,5±1,4 23,7±1,3	35,6* 76,4* 65,8*	— — 23,6±0,9	— — 45,6*	42,1±2,2 45±2,7 47±3,3	84,5* 90,4* 94,3*
Цефуроксим	0,25 0,1 0,025	34,6±2,2 28,2±1,2 40,9±2,6	96,1* 78,6* 113,6	— — 49,5±2,8	— — 95,7	39±1,8 41,1±2,1 —	78,3* 71,5* 82,5*
Цефотаксим	1,0 0,5 0,1	2,8±0,02 9,7±0,05 20,8±0,9	7,8* 26,9* 57,8*	— — 46,8±2,8	— — 90,5	33,2±1,3 35,6±1,5 40,6±2,1	66,7* 71,5* 81,5*
Цефоперазон	1,0 0,5 0,1	26±1,2 29,2±1,3 30,7±2,0	72,2* 81,1* 85,2*	— 20,6±0,9 —	— 39,8 —	24,4±1,2 31,5±1,6 —	— 49* 63,3*
Гентамицин	0,2 0,1	14,8±0,6 15,3±0,7	41,1* 42,5*	— 27,0±0,6	— 52,2*	38,4±2,3 40,5±81,3	77* 81,3*
Амикацин	0,25 0,1	27,9±1,9 34±2,1	77,5* 94,5*	— 41,5±2,2	— 80,2*	36,9±1,8 38,8±1,5	74,1* 77,1*
Нетилмицин	0,2 0,1	12,8±0,6 13,9±0,8	35,6* 38,6*	— 40,5±2,1	— 78,3	34,9±2,1 36,8±2,2	70* 73,9

Примечание: приведены средние значения 10 измерений. * - p<0,05

Снижение свечения обычно составило не более 30%. Лишь цефоперазон уменьшил контрольное значение свечения в 2 раза.

Таблица 4
Влияние ряда лекарственных препаратов и лецитина на ХЛ модельных систем

Концентрация, мг/мл	Система АФК (цитрат – фосфат – люминол)	S	% от контроля	А	% от контроля	Система ПОЛ (липосомы из яичного желтка)	S	% от контроля	А	% от контроля
Контроль	0	41,1±4,5	100	23,0±4,0	100	18,2±3,5	100	8,3±1,7	100	100
Ксидифон	1,0 0,1 0,01	6,0±0,6* 29,4±4,1 36,1±4,4	-85,4 -28,3 -12,2	6,3±1,2* 17,2±2,9 19,1±3,8	-72,5 -25,2 -17,0	24,0±4,1 21,0±3,9 26,3±4,2	31,8 15,2 44,1	6,1±1,1 7,6±2,1 12,1±2,2	-25,9 -8,0 145,7	-
Натрия тиосульфат	1,0 0,1 0,01	1,9±0,01* 7,8±2,1* 18,3±3,5*	-95,4 -81,0 -55,5	0,7±0,01* 3,6±0,6* 9,1±1,6*	-97,0 -84,5 -60,6	0,006±0,000* 11,9±2,1 14,6±2,2	-99,7 -34,7 -19,8	3,5±0,6* 5,3±0,9 6,6±1,2	-58,0 -36,1 -20,0	-
Лецитин	1,0 0,1 0,01	12,3±2,2* 33,4±4,3* 28,2±3,9*	-70,0 -18,7 -31,4	5,8±1,1* 18,0±3,0 14,3±2,6	-74,9 -21,7 -37,8	9,1±1,6* 40,0±4,5* 21,1±3,9	-50,1 119,4 15,8	3,2±0,6 23,4±4,4* 10,9±1,9	-62,0 182,4 31,0	-

Примечание: приведены средние значения 10 измерений.
* - достоверность различий показателей с контролем (p<0,05)

В нашем эксперименте значительное снижение интенсивности ХЛ интактных клеток отмечалось в присутствии антибиотиков «старого» поколения – эритромицина и цефазолина, а также цефоперазона. Гентамицин на 50% оказывал ингибирующее действие на кислородный взрыв при инкубации с интактными фагоцитами цельной крови. Этим, возможно, объясняется иммуносупрессивное действие данных антибиотиков. Антибиотики нового поколения – цефуроксим, цефотаксим, амикацин, нетилмицин, джозамицин и амоксициллин/квалулановая кислота незначительно угнетали генерацию АФК фагоцитами крови, тем самым в меньшей степени подавляя функциональную активность фагоцитов. Усложнение пространственной химической структуры, наличие дополнительных гидроксильных и аминогрупп усиливали антиокислительную активность аминогликозидов и цефалоспоринов in vitro в сравнении с другими антибиотиками.

Антиоксидантное действие антибиотиков объяснялось их свойством нейтрализовать АФК и блокировать свободно-радикальные реакции. Ксидифон – активный комплексон, регулирует кальциевый обмен, предотвращает кристаллообразование в мочевыводящих путях. Натрия тиосульфат – дезинтоксикационное, противовоспалительное, десенсибилизирующее средство. Лецитин – комплекс фосфолипидов, разрешен для использования в качестве пищевых добавок в России (Е322, Сан.ПиН 2.3.2.1078-01).

Изучаемые препараты и лецитин угнетали свечение в модельной системе, генерирующей АФК, причем степень угнетения свечения увеличивалась с ростом концентрации препарата (табл.4). В модельной системе ПОЛ получены результаты: ксидифон максимально вызвал достоверное снижение А и S свечения в системе АФК в 1,3 раза по сравнению с контролем, значительно не влияя на ПОЛ. Натрия тиосульфат в системе АФК достоверно интенсивнее снижал ХЛ во всех разведениях, а в системе ПОЛ угнетал свечение лишь в максимальных концентрациях. Лецитин достоверно подавлял ХЛ в системе АФК прямо пропорционально концентрации в системе. Воздействие лецитина на ПОЛ: в больших дозах он проявлял антиоксидантную активность, в средних – прооксидантную, а в малых – недостаточное незначительное угнетение ХЛ.

Наибольший антиоксидантный эффект в модельных системах, генерирующих АФК и ПОЛ, проявил натрия тиосульфат, наименьший – ксидифон. Действие лецитина на СРО зависит от концентрации препарата, что надо учитывать при его назначении. Для исследования влияния препаратов на генерацию АФК клетками крови конкретного больного использовали цельную гепаринизированную кровь новорожденного ребенка. В концентрациях, близких к терапевтическим, все препараты in vitro подавляли фагоцитарную активность клеток крови. В большей степени антиоксидантная активность проявлялась у лецитина, что указывает на возможность его применения при гиперэргических фагоцитарных реакциях с избыточной продукцией АФК. Выявлено нарушение процессов СРО у новорожденных с заболеваниями ОМС на фоне ИВЗ. Интенсификация свободно-радикальных процессов может быть одним из патогенетических звеньев перинатального поражения почек. Изменение характера свечения мочи и крови не специфичны, оно меняется при нарушении функции почек независимо от этиопатогенеза заболевания. Исследование ХЛ можно рекомендовать к применению в неонатальной практике для оценки процессов СРО фагоцитирующих клеток крови и мочи, как средство скрининга антиокислительной активности препаратов и мониторинга изменения СРО при медикаментозных воздействиях на организм. ХЛ мочи позволяет диагностировать перинатальные нефропатии на доклинической стадии.

Литература

1. Акбашев А.Р. Состояние свободно-радикального окисления при хроническом пиелонефрите и оценка антиокислительной активности препаратов, используемых в терапии воспалительных заболеваний почек и мочевыводящих путей: Дис. ... канд. мед. наук. – Уфа, 2005.
2. Голиков А.П. и др. // Лечащий врач. – 2003. – № 4. – С. 70.
3. Фархутдинова Л.В., Хайбуллина Г.А. // Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и болезни человека. – Смоленск, 2003. – С. 72–73.
4. Ланкин В.З. Окислительный стресс. – М., 2002.
5. Alien K.Tresini M. // Free Radic Biol Med. – 2000. – Vol.28. – P.463–499.
6. Панова Л.Д. и др. // Педиатрия. – 2004. – №1. – С.33–38.
7. Беликова Е.Э. // Современные технологии в педиатрии и детской хирургии. – М., 2004. – С. 265–266.
8. Фархутдинов Р.Р., Тевдорадзе С.И. // Методы оценки антиокислительной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения. – М., 2005. – С. 147.

9. *Современные технологии в педиатрии и детской хирургии* / Портнягина Э.В. и др. – М., 2005. – С. 453.

10. *Нерешенные проблемы перинатологии* // Панова Л.Д. и др. – Екатеринбург, Нижневартовск. – 2005. – С. 128–130.

11. *Ребенок*, врач, лекарство // Панова Л.Д., Ахмадеева Э.Н., Ярукова Е.В. и др. – СПб., 2007. – С. 113–115.

12. *Фархутдинов Р.Р., Лиховских В.А.* // Методы оценки антиокислительной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения. – М., 2005. – С.155.

13. *Фархутдинов Р.Р., Фархутдинова Л.В.* // Клинический журнал. – 2000. – № 2. – С.13–16.

14. *Панова Л.Д., Фархутдинов Р.Р.* // Эфферентная терапия. – Т. 12, №3. – 2006. – С.30–35.

15. *Панова Л.Д., Ахмадеева Э.Н.* // Омский научный вестник. – Вып. 19. – 2002. – С.12–129.

THE APPLICATION OF CHEMILUMINESCENT METHODS IN NEONATOLOGY

L.D. PANOVA

Summary

The article deals with application experience of chemiluminescent methods in neonatology for an estimation of processes FRO blood cells and urine, as means of screening of antioxidizing activity of drugs and as FRO change monitoring at various medicament influences upon an organism, and also diagnostics of perinatal pathology of kidney on preclinical stages.

Key words: chemiluminescent methods, perinatal pathology

УДК 616.34

ВЕГЕТАТИВНАЯ РЕАКТИВНОСТЬ У ПОДРОСТКОВ С СИНДРОМОМ РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА

В.М. ДЕЛЯГИН^{***}, О.В. НИКАНДРОВА^{*}, И.В. СИЧИНАВА^{***}

Ключевые слова: синдром раздраженного кишечника

Синдром раздраженного кишечника по итогам воздействия холодового раздражителя характеризуется избыточной, длительно сохраняющейся реакцией вегетативной нервной системы. Повышенная реактивность ВНС реализуется не только на отрицательные раздражители (опускание кисти в холодную воду), но и на их отмену (вынимание кисти из холодной воды).

Синдром раздраженного кишечника (СРК) – относительно нередкое состояние, представляющее собой совокупность функциональных расстройств продолжительностью ≤12 недель на протяжении последних 12 месяцев, проявляющееся болью и/или дискомфортом в животе, метеоризмом, которые проходят после дефекации, сопровождаются изменениями частоты и консистенции стула и сочетаются на протяжении 25% времени заболевания изменениями консистенции кала, акта дефекации (императивные позывы, тенезмы, чувство неполного опорожнения кишечника, дополнительные усилия при дефекации, выделения слизи) [1]. СРК достаточно часто можно трактовать как одно из проявлений полиалгического синдрома, так как он сочетается с висцеральной гипералгией, головными болями, болями в спине, снижением работоспособности [2, 3]. Это мнение соответствует представлениям о дисбалансе вегетативной нервной системы (ВНС) у пациентов с СРК [4], что было зарегистрировано многими способами, в том числе и по результатам раздражения кишечника [5, 6]. Однако в педиатрии экспериментальных работ клинической направленности по данной проблеме недостаточно.

Цель работы – определение реактивности ВНС по характеру ощущения боли и изменению ритма сердца у подростков с СРК в ответ на стрессовые раздражения.

Материал и методы. Обследовали 30 случайно выбранных подростков, в том числе 14 – с СРК (1 группа) и 16 – без абдоминальных жалоб (2 группа, контрольная).

^{***}308015, Белгород, ул. Победы 85, Белгородский госуниверситет
^{**}Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Росздрава;
^{*}Московская медицинская академия, Москва

Девочек в 1 гр. было 9, мальчиков – 5, средний возраст – 16,9 лет (пределы колебаний – 14–18 лет). Диагноз СРК устанавливали по Римским критериям II [7] при исключении гастродуоденита и других состояний, которые могли бы обусловить синдром рецидивирующей боли в животе. Выделить варианты с преобладанием запоров или диареи было сложно, т.к. запоры на фоне эмоций (экзамены) сменялись поносами. У 13 подростков 1 группы по классификации [8] зарегистрировано лёгкое течение СРК, у 1 – умеренно тяжёлое. Синдромом болей в животе часто рецидивировал, снижал качество жизни. У 8 подростков 1 гр. зафиксированы признаки дисплазии соединительной ткани, что проявлялось избыточной эластичностью кожи (8 детей), синдромом суставной гипермобильности (у 8), долихостономелией (у 4 подростков), миопией средней степени (у 2), воронкообразной грудной клеткой (у 2). В отдалённом анамнезе 2 детей оперированы по поводу паховой грыжи, 1 – по поводу водянки оболочек яичка, у 1 были два эпизода илеоцекальной инвагинации. У 1 мальчика-подростка была экстрасистолия. В ряде случаев подростки принимали но-шпу и/или пищеварительные ферменты. 5 подростков периодически принимали эмоциум, 4 – линекс.

В гр. 2 девочек было 10, мальчиков – 6, средний возраст – 16,4 года (пределы колебаний 14–18 лет). В период нашего обследования подростки наблюдались у гинеколога (4), уролога-андролога (2), ЛОР-врача (3), офтальмолога (3) или обследовались в рамках предпривычной подготовки. Синдром болей в животе их не беспокоил. Подростков с признаками дисплазии соединительной ткани было 4. Для обеих групп критерием исключения из исследования была бронхиальная астма в связи с возможной провокацией приступа холодной водой. Обследование выполняли по й методике [9]. Для провоцирования стрессовой реакции подросток помещал кисти рук в холодную воду (t=10°C). По [10], такая процедура вызывает умеренно неприятные ощущения у здоровых. Каждые 15 с велась регистрация частоты сердечных сокращений по данным ЭКГ и фиксации неприятных ощущений в условной шкале от 0 (нет неприятных ощущений/боли) до 100 (максимально неприятные ощущения/боль). Исследование выполняли в течение 90 с при нахождении рук в холодной воде и 90 с после их удаления из воды. До начала опыта для адаптации подросток в течение 15 мин находился с наложенными электродами аппарата ЭКГ для записи II отведения в комфортной позе в кабинете врача. За 2 мин до помещения кистей в холодную воду получали исходные данные.

Все исследования выполнялись при информированном согласии подростков и их родителей, с согласия Учёного Совета и этического комитета. Подростки были предупреждены, что они могут прервать эксперимент в любой момент.

Таблица 1

Динамика частоты сердечных сокращений (ЧСС) при стрессовой реакции у подростков с СРК (1 группа) и в контрольной группе (2 группа)

	ЧСС - Исследуемая группа (n=14)					ЧСС - Контроль (n=16)					Критерий Манна – Уитни
	Медиана	Min	Max	25	75	Медиана	Min	Max	25	75	
0	70	65	84	67	73,5	72,5	65	85	70	78	0,24
15	92,5	80	115	85,5	96	78	70	95	75	85	0,00043
30	100	90	125	95	117,5	82	68	90	80	90	0,00000
45	92	80	110	90	99	85	75	94	85	90	0,000417
60	90	70	110	82,5	92	86	70	93	80	90	0,423
75	85	70	90	80	90	82	70	95	80	88	0,58
90	80	70	90	77,5	82,5	80	70	95	80	86	0,473
-15	78,5	73	85	75	80	85	75	100	80	85	0,006
-30	75	60	87	70	78	80	70	90	75	85	0,11
-45	75	66	90	70	75,5	75	60	90	75	77	0,47
-60	72	60	84	70	75	70	50	85	60	75	0,40
-75	70	65	80	66	75	63,5	60	75	60	67	0,001
-90	70	63	80	68,5	72,5	70	60	75	65	75	0,79

Математическую обработку проводили с определением средних величин, стандартных отклонений, медианы, 25% и 75% доверительного интервала. Достоверность различий оценивали по критерию Манна – Уитни при p меньше или равном 0,05.

Результаты. Подростки воспринимали тест спокойно и даже с интересом. Как видно из таблицы 1 и рис. 1 и 2 исходные показатели ЧСС в основной и контрольной группах не различались. При помещении кистей рук в холодную воду подростки 1 гр. реагировали резким увеличением частоты сердечных сокращений. На 60, 75 и 90 с по мере адаптации частота сердечных сокращений у подростков 1 группы уменьшалась и практически