



Развитие органических дисфункций у детей

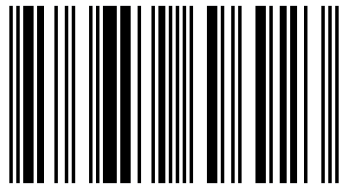
В работе изложены вопросы усовершенствования алгоритма наблюдения за новорожденными с асфиксией в раннем неонатальном периоде путем идентификации анамнестических, клинико-метаболических и генетических (ACE, AGT2R1, eNOS полиморфизм) предикторов развития органических дисфункций у детей с данной патологией. Также в работе обоснована и разработана интегрированная модель предикции поражений витальных и невитальных органов, найдены ключевые комплексные биомаркеры, которые позволяют определить степень повреждения органов у отдельно каждого ребенка, то есть использовать индивидуализированные персонализированный подход к диагностике полиорганной дисфункции на ранних стадиях и своевременно обеспечить их коррекцию.

Елена Ковалева  
Валерий Похилько  
Галина Соловьева

# Развитие органических дисфункций у новорожденных при асфиксии

Елена Ковалева является профессионалом в области неонатологии, известна как опытный педагог, врач и наставник. В 2011 году защитила докторскую диссертацию, а в 2013 году ей было присвоено звание профессора. В настоящее время является профессором кафедры педиатрии ВГГУ «Украинская медицинская стоматологическая академия».

Ковалева, Похилько, Соловьева



978-3-659-69692-3

 **LAMBERT**  
Academic Publishing

**Елена Ковалева  
Валерий Похилько  
Галина Соловьева**

**Развитие органических дисфункций у новорожденных при  
асфиксии**



**Елена Ковалева  
Валерий Похилько  
Галина Соловьева**

**Развитие органических дисфункций у  
новорожденных при асфиксии**

**LAP LAMBERT Academic Publishing RU**

## **Impressum / Выходные данные**

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek: Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Alle in diesem Buch genannten Marken und Produktnamen unterliegen warenzeichen-, marken- oder patentrechtlichem Schutz bzw. sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen der jeweiligen Inhaber. Die Wiedergabe von Marken, Produktnamen, Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen u.s.w. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Библиографическая информация, изданная Немецкой Национальной Библиотекой. Немецкая Национальная Библиотека включает данную публикацию в Немецкий Книжный Каталог; с подробными библиографическими данными можно ознакомиться в Интернете по адресу <http://dnb.d-nb.de>.

Любые названия марок и брендов, упомянутые в этой книге, принадлежат торговой марке, бренду или запатентованы и являются брендами соответствующих правообладателей. Использование названий брендов, названий товаров, торговых марок, описаний товаров, общих имён, и т.д. даже без точного упоминания в этой работе не является основанием того, что данные названия можно считать незарегистрированными под каким-либо брендом и не защищены законом о брендах и их можно использовать всем без ограничений.

Coverbild / Изображение на обложке предоставлено: [www.ingimage.com](http://www.ingimage.com)

Verlag / Издатель:

LAP LAMBERT Academic Publishing

ist ein Imprint der / является торговой маркой

OmniScriptum Publishing Group

17 Meldrum Street, Beau Bassin 71504, Mauritius

Email / электронная почта: [info@omniscryptum.com](mailto:info@omniscryptum.com)

Herstellung: siehe letzte Seite /

Напечатано: см. последнюю страницу

**ISBN: 978-3-659-69692-3**

Copyright © Елена Ковалева, Валерий Похилько, Галина Соловьева

Copyright © 2017 OmniScriptum Publishing Group

Alle Rechte vorbehalten. / Все права защищены. Beau-Bassin 2017

МИНИСТЕРСТВО ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ УКРАИНЫ  
ВЫСШЕЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧЕБНОЕ ЗАВЕДЕНИЕ УКРАИНЫ  
«УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ  
АКАДЕМИЯ»

Ковалева Е.М., Похилько В.И., Соловьева Г.А., Цвиренко С.Н., Коробка О.В.

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ РАЗВИТИЯ  
ОРГАННЫХ ДИСФУНКЦИЙ У ДОНОШЕННЫХ  
НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ АСФИКСИИ**

Полтава – 2017

УДК 616-053.31:616-001.8:612.6.05:616.1/0-008.64

Ковалева Е.М., Похилько В.И., Соловьева Г.А., Цвиренко С.Н., Коробка О.В..

Клинико-генетические детерминанты развития органных дисфункций у доношенных новорожденных при асфиксии

Утверждено ученым советом ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия» (протокол № 12 от 21.06.2017).

В монографии изложены вопросы усовершенствования алгоритма наблюдения за новорожденными с асфиксией в раннем неонатальном периоде путем идентификации анамнестических, клинико-метаболических и генетических (*ACE*, *AGT2R1*, *eNOS* полиморфизм) предикторов развития органных дисфункций у детей с данной патологией.

В монографии обоснована и разработана интегрированная модель предикции поражений витальных и невитальных органов, найдены ключевые комплексные биомаркеры, которые позволяют определить степень повреждения органов у отдельно каждого ребенка, то есть использовать индивидуализированный персонализированный подход к диагностике полиорганных дисфункций на ранних стадиях и своевременно обеспечить их коррекцию.

Монография практически направлена на студентов, интернов, педиатров, неонатологов и врачей семейной медицины.

## **Авторы**

Ковалева Е.М., доктор медицинских наук, профессор кафедры педиатрии №1 с пропедевтикой и неонатологией ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия».

Похилько В. И., доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедры педиатрии №1 с пропедевтикой и неонатологией ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия».

Соловьева Г.А., кандидат медицинских наук, ассистент кафедры педиатрии №1 с пропедевтикой и неонатологией ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия».

Цвиренко С.М., кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии №1 с пропедевтикой и неонатологией ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия».

Коробка О. В., кандидат медицинских наук, аспирант кафедры педиатрии №1 с пропедевтикой и неонатологией ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия».

## **Рецензенты**

Сенаторова Г.С., доктор медицинских наук, профессор кафедры педиатрии №1 и неонатологии Харьковского национального медицинского университета,

Крючко Т.А., доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой педиатрии № 2 ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия».

## СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ТЕРМИНОВ.....	6
ВВЕДЕНИЕ.....	8
РАЗДЕЛ 1. СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ФАКТОРЫ РИСКА, ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ И КЛИНИКУ ОРГАННЫХ ДИСФУНКЦИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ АСФИКСИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....	10
1.1. Определение асфиксии и эпидемиологические тренды ее частоты в мире.....	10
1.2. Причины асфиксии и детерминанты ее развития.....	12
1.3. Адаптационные механизмы органов плода/ребенка к действию гипоксии/асфиксии.....	14
1.3.1. Циркуляторные изменения у плода/ребенка во время родов....	15
1.3.2. Нециркуляторный ответ плода/ребенка на гипоксию/асфикию	16
1.4. Обоснование выбора генов-кандидатов при изучении ассоциаций между асфиксией и развитием органных дисфункций у новорожденных.....	21
Выводы к разделу 1	23
РАЗДЕЛ 2. АССОЦИАЦИИ МЕЖДУ ПОЛИМОРФИЗМОМ <i>ACE</i> , <i>AGT2R1</i> , <i>eNOS</i> ГЕНОВ И РАЗВИТИЕМ АСФИКСИИ У ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ.....	24
Выводы к разделу 2.....	28
РАЗДЕЛ 3. АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ, КЛИНИКО- МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ РАЗВИТИЯ ДИСФУНКЦИИ ВИТАЛЬНЫХ ОРГАНОВ НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ АСФИКСИИ.....	30
3.1. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия у новорожденных и факторы риска ее развития.....	30
3.1.1. Анамнестические и клинико-метаболические детерминанты	



развития гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных при асфиксии.....	31
3.1.2. Генетические детерминанты развития гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных при асфиксии.....	38
3.1.3. Прогностическая модель развития гипоксически-ишемической энцефалопатии у доношенных детей при асфиксии.....	41
3.2. Дисфункция миокарда у новорожденных при асфиксии и факторы риска, которые ассоциируются с ее развитием .....	43
3.2.1 Анамнестические, клинические, метаболические факторы развития дисфункции миокарда у новорожденных при асфиксии.....	44
3.2.2. Генетические детерминанты риска развития дисфункции миокарда у новорожденных при асфиксии.....	46
3.2.3. Прогностическая модель развития дисфункции миокарда у новорожденных при асфиксии.....	49
Выводы к разделу 3 .....	54
<b>РАЗДЕЛ 4. КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ РАЗВИТИЯ ДИСФУНКЦИЙ НЕВИТАЛЬНЫХ ОРГАНОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ АСФИКСИИ .....</b>	<b>56</b>
4.1. Острое повреждение почек у доношенных новорожденных при асфиксии и факторы риска, которые ассоциируются с его развитием	56
4.1.1. Анамнестические, клинические, метаболические факторы и генетические детерминанты риска развития острого повреждения почек у новорожденных при асфиксии .....	57
4.1.2. Прогностическая модель развития ОПП у новорожденных при асфиксии .....	64
4.2. Детерминанты развития дыхательных расстройств у детей при асфиксии .....	67
4.2.1. Анамнестические, клинико-метаболические факторы риска и влияние полиморфизма генов <i>ACE</i> , <i>AGT2R1</i> , <i>eNOS</i> на развитие	

дыхательных расстройств.....	68
4.2.2. Прогностическая модель развития дыхательных расстройств у доношенных детей при асфиксии .....	73
4.3. Клинико-генетические детерминанты развития дисфункции ЖКТ у новорожденных при асфиксии .....	75
4.3.1. Анамнестические, клинические, метаболические и генетические факторы риска развития дисфункций ЖКТ.....	76
4.3.2. Прогностическая модель развития дисфункции ЖКТ у новорожденных при асфиксии.....	80
Выводы к разделу 4.....	83
<b>РАЗДЕЛ 5 ИНТЕГРИРОВАННАЯ МОДЕЛЬ ПРЕДИКЦИИ РАЗВИТИЯ ОРГАННЫХ ДИСФУНКЦИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ АСФИКСИИ И ПРИКЛАДНЫЕ ТОЧКИ ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ</b>	<b>85</b>
Выводы к разделу 5.....	96
<b>ВЫВОДЫ</b> .....	<b>97</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b> .....	<b>100</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	<b>102</b>

## ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, СОКРАЩЕНИЙ И ТЕРМИНОВ

АГ	—	артериальная гипотензия
АлТ	—	аланинтрансфераза
АПФ	—	ангиотензинпревращающий фермент
АсТ	—	аспартаттрансфераза
АД	—	артериальное давление
ОИТН	—	отделение интенсивной терапии новорожденных
ВООЗ	—	Всемирная организация охраны здоровья
ОШ	—	отношение шансов
ГЭБ	—	гематоэнцефалический барьер
ГИЭ	—	гипоксически-ишемическая энцефалопатия
ОПП	—	острое повреждение почек
ДАД	—	диастолическое артериальное давление
ДИ	—	доверительные интервалы
ДМ	—	дисфункция миокарда
ДН	—	дыхательная недостаточность
ДНК	—	дезоксирибонуклеиновая кислота
СОЖ	—	суточный объем жидкости
ДР	—	дыхательные расстройства
ДЦП	—	детский церебральный паралич
ДЖКТ	—	дисфункции ЖКТ
ЭКГ	—	электрокардиограмма
ЭП	—	энтеральное питание
КТГ	—	кардиотокограмма
ЛДГ	—	лактатдегидрогеназа
МРТ	—	магнитно-резонансная томография
НЭ	—	неонатальная энцефалопатия
НЭК	—	некротический энтероколит

РАС	— ренин-ангиотензиновая система
САД	— систолическое артериальное давление
СРБ	— С-реактивный белок
ФР	— факторы риска
ЦНС	— центральная нервная система
ЧСС	— частота сердечных сокращений
ИВЛ	— искусственная вентиляция легких
ВЕ	— дефицит оснований (или избыток кислот)
СО <sub>2</sub>	— углекислый газ
Fi O <sub>2</sub>	— фракция кислорода, которая вдыхается
IL-1	— интерлейкин IL-10
IL-6	— интерлейкин IL-1β
IL-8	— интерлейкин IL-8
М	— среднее значение
Me	— медиана
m	— стандартная ошибка среднего значения
NO	— оксид азота
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	— суммарное количество нитритов мочи
Q	— квартиль
O <sub>2</sub>	— кислород
PaO <sub>2</sub>	— парциальное давление кислорода в артериальной крови
PEEP	— положительное давление в конце выдоха
PiP	— давление в дыхательных путях на высоте вдоха
pH	— мера активности ионов водорода в растворе
pCO <sub>2</sub>	— парциальное давление углекислого газа в крови

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность.** Перинатальная асфиксия является одной из основных причин смерти новорожденных как в мире [1], так и в Украине [2], при этом она является значительным медицинским и экономическим бременем для системы здравоохранения многих стран в связи с высокой инвалидизацией детей и развитием неблагоприятных ранних и отдаленных полиорганных осложнений [3].

Иностранные и отечественные ученые на протяжении многих лет большее внимание уделяли изучению влияния гипоксии/асфиксии на мозг [4,5], и значительно меньшее внимание - ее влияния на другие органы и системы организма. Однако гипоксия тканей и клеток, которая является следствием прекращения кровотока и газообмена, реализуется не только поражением головного мозга, но и дисфункциями других органов, при этом сердце и почки являются двумя важнейшими нецеребральными органами-мишенями [6].

Патофизиологические циркуляторные и нециркуляторные механизмы защиты витальных органов (мозга, сердца, надпочечников) от действия гипоксии/асфиксии хорошо изучены [7]. Но не у всех новорожденных эти защитные реакции работают одинаково и последовательно, поэтому ответ ребенка на действие гипоксии / асфиксии является гетерогенной. Ученые предполагают, что возможно этому способствует генетическая предрасположенность [8], которая пока окончательно не выяснена, тромбофилические осложнения [9], патология плаценты [10], а также инфекции и воспалительные процессы, которые наряду с гипоксией, формируют так называемый «двойной удар» на органы ребенка [11].

Среди генов-кандидатов именно гены ренин-ангиотензиновой системы (ACE, AGT2R1) и *eNOS* является биологически и клинически значимыми в формировании фенотипических особенностей не только течения хронических обструктивных легочных болезней [12], заболеваний сердечно-сосудистой [13], мочевыделительной систем [14, 15], но и в морфо-

функциональном развитии сердца, почек и легких [16]. Поэтому исследования роли полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы в возникновении органных дисфункций при асфиксии могут быть перспективными и полезными.

## РАЗДЕЛ 1

# СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ФАКТОРЫ РИСКА, ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ И КЛИНИКУ ОРГАННЫХ ДИСФУНКЦИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ АСФИКСИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

### 1.1. Определение асфиксии и эпидемиологические тренды ее частоты в мире

Асфиксия при рождении является основной причиной неонатальной смертности, особенно в развивающихся странах. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), наряду с преждевременным рождением и сепсисом асфиксия занимает II место среди причин смертности детей. От четырех до девяти миллионов новорожденных ежегодно рождаются с асфиксией, из которых 1,2 миллиона умирает и, по крайней мере, у такого же количества детей развиваются тяжелые последствия, такие как церебральный паралич, эпилепсия и задержка развития [17].

«Асфиксия при рождении» по дефиниции ВОЗ определяется, как "неспособность инициировать или поддерживать регулярное дыхание при рождении» [18]. Это заболевание, которое может иметь серьезные медицинские и правовые последствия. Медицинские - это тяжелые неврологические осложнения и инвалидность ребенка, а правовые - это потенциальная ответственность врачей за свои действия. Поэтому появился целый ряд публикаций выданных авторитетными всемирными организациями и обществами неврологов, акушеров-гинекологов и педиатров [19,20], в которых определены четкие диагностические критерии заболевания и освещены вопросы предостережения широкого использования термина «асфиксия». В частности, в работе S. Dzakpasu, посвященной изучению частоты асфиксии в Канаде, диагноз «асфиксия» определяли у рожденного живого ребенка при наличии у него любого из следующих признаков: оценки по шкале Апгар на 5 минуте менее 4 балла, депрессии при

рождении, которая требовала проведения вентиляции маской более 3 минут и / или интубации или наличия судорог после перенесенной асфиксии [21]. Однако в отечественных приказах [22, 23] рекомендуется диагностировать умеренную асфиксию при достаточно нечетких условиях без привязки к гипоксическому событию во время акушерской ситуации. Поэтому сравнение показателей заболеваемости новорожденных на асфиксию в Украине и развитых странах без определения критериев диагноза, будет неточным и неправильным. Следует отметить, что указанный диагноз нужно с осторожностью выставлять новорожденным еще и потому, что нарушения их газообмена в перинатальном периоде не имеет точных биохимических критериев [20, 24].

За последние двадцать лет частота асфиксии среди новорожденных в развитых странах мира значительно сократилось. Так, по данным Национальной базы данных пациентов США в течение 1989-2000 гг. Частота заболевания сократилась с 12,2 до 1,1 случаев на 1000 детей родившихся живыми (%) [25]. В Канаде за 1991-2005 гг. частота асфиксии при рождении также весьма существенно уменьшилась с 43,8 % до 2,4 % [21]. Подобные тенденции были подтверждены исследованиями, проведенными в Великобритании, которые показали уменьшение частоты гипоксически-ишемической энцефалопатии у доношенных новорожденных после перинатальной асфиксии с 7,7 % в 1976-1980 гг. До 1,9 % в 1992-1996 гг. [26]. Однако в исследовании, проведенном в Швеции, показано отсутствие существенных изменений в частоте асфиксии за 1985-1991 гг., что в указанный период составила 1,8 случаев на 1000 детей, родившихся живыми [27]. В Украине за 2003-2008 гг. Также отмечалось снижение показателя заболеваемости асфиксию с 91,11 % до 38,4 % [28, 29].

Уменьшение частоты асфиксии среди новорожденных в развитых странах ученые объясняют изменениями акушерской практики. Так, по данным канадских исследователей увеличение частоты кесарева сечения и индукции родов привело к снижению перинатальной и неонатальной смертности [21,



30, 31]. Тем не менее, дальнейшие исследования в этом направлении не установили связи между увеличением частоты применения в акушерской практике таких технологий, как кесарево сечение и мониторинг ЧСС плода, с уменьшением частоты состояний, связанных с асфиксией - гипоксическо-ишемической энцефалопатией, судорожным синдромом, а также с дородовой и послеродовой смертности детей [26, 32].

### **1.2. Причины асфиксии и детерминанты ее развития**

Термин «асфиксия» предполагает нарушение газообмена, что приводит к прогрессирующей гипоксии, гиперкапнии и ацидозу, тяжесть которых зависит от степени и продолжительности этого нарушения. Ухудшение газообмена, в том числе и его восстановление, может полностью происходить во время внутриутробной жизни, а может и во время родов, что приводит к неадекватному кровообращению плода именно в это время, и непосредственно после родов в случае невозможности поддерживать газообмен без плацентарного кровообращения [20].

В настоящее время известны материнские, плацентарные и неонатальные факторы, приводящие к нарушению кровотока у плода. К материнской факторам относят: а) заболевания, уменьшающие плацентарную сосудистую сеть и соответственно, негативно влияют на кровоток (например, диабет, артериальная гипертензия или преэклампсия) 2) состояния, которые сопровождаются артериальной гипотонией у матери (например, действие лекарств, некоторые заболевания матери, спинальная анестезия и т.д.). До плацентарных факторов, нарушающих кровоток, относятся: пережатие пуповины, отслойка плаценты, фето-материнские кровоизлияния или воспаление [7]. В частности, на сегодня доказано, что хориоамнионит приводит к нарушению плацентарного кровообращения и асфиксией [33]. До факторов, связанных исключительно с новорожденным относят состояния, при которых дети не способны адекватно вентилироваться и обеспечивать нужный легочной газообмен после прекращения плацентарного кровообращения (например, врожденные аномалии дыхательных путей,

аномалия центральной нервной системы, повреждениях спинного мозга или действие некоторых медикаментов) [20].

Таким образом, причины развития асфиксии хорошо известны, однако дебаты о важности антенатальных и интранатальных факторах в развитии асфиксии до сих пор продолжаются [34-36]. Несколько эпидемиологических исследований выявили влияние неблагоприятных антенатальных факторов риска, в частности социально-демографических факторов, материнских состояний и дородовых осложнений на развитие неонатальной энцефалопатии (НЭ) [37, 38]. В более ранних работах показана связь между возрастом матери, акушерским анамнезом, ростом плода, некоторыми материнскими состояниями и интранатальными осложнениями, такими как ненормальная кардиотокограмма (КТГ) [39-41]. В исследовании М. Martinez-Biarge с соавторами показано, что только один антенатальный фактор, но несколько интранатальных факторов независимо друг от друга были связаны с развитием гипоксически-ишемической энцефалопатии (ГИЭ) [42]. Авторы делают вывод, что антенатальные факторы могут способствовать склонности некоторых женщин к развитию в них неблагоприятных интранатальных событий, но их присутствие само по себе не является достаточным для развития перинатальной гипоксии / ишемии. Другие исследования с более тщательным определением диагноза «энцефалопатия», что автоматически исключает большинство условий антенатального или генетического происхождения, обнаружили, что события во время родов являются основными или способствующими факторами в причинной последовательности развития энцефалопатии [38, 43, 44].

Низкие оценки по шкале Апгар и метаболический ацидоз традиционно используются для определения асфиксии. I. Milsom и др. в популяционном исследовании случай-контроль среди 227 доношенных детей с низкими оценками по шкале Апгар, идентифицировали только 1 фактор (семейное положение), но 6 интранатальных факторов, которые независимо друг от друга ассоциировались с низкими оценкам по шкале Апгар. В подгруппе из

75 детей, у которых впоследствии развилась энцефалопатия, только ненормальная КТГ, наличие мекония, а также кесарево сечение были связаны с развитием указанного состояния [45]. Аналогичным образом в другом многоцентровом исследовании случай-контроль оценки влияния факторов риска на развитие фетального тяжелого ацидоза, выявлено только 1 материнский фактор, 2 акушерских состояния, а также 4 события во время родов, независимо были связаны с  $pH < 7, 0$  [46]. При этом авторы делают вывод, что связь между энцефалопатией и интранатальными факторами риска не означает, что это состояние вызвано плохим наблюдением во время родов. Однако отчеты с конфиденциального расследования причин мертворождений и случаев смерти в детстве, показали, что значительному числу случаев неонатальной энцефалопатии и интранатальной гибели предшествует один или более эпизодов неоптимального ухода [47, 48], однако их истинная частота в общей популяции до сих пор остается неизвестной. Попытки уменьшить распространенность ГИЭ и интранатальной смертности путем повышения уровня медицинской помощи во время родов имели противоречивые результаты [49, 50], но есть некоторые обнадеживающие данные, свидетельствующие, что улучшение интранатального сопровождения может оказать положительное влияние на конечные последствия [49, 51].

Таким образом, несмотря на все последние достижения в области интранатального мониторинга за состоянием плода, очень мало еще известно о реальном состоянии плода во время родов [34]. Интранатальные факторы являются финальными и важными предикторами развития асфиксии и ее органических дисфункций, однако до сих пор остаются невыясненными вопросы, почему некоторые дети страдают от асфиксии, а некоторые – нет.

## **1.2. Адаптационные механизмы органов и систем плода/ребенка к действию гипоксии/асфиксии**

Плод человека развивается в гипоксемическом, не в патологическом состоянии, чему способствует ряд решающих механизмов. Во-первых,

высокое сродство кислорода с фетальным гемоглобином, вследствие чего кислород легко диффундирует из материнской циркуляции в циркуляцию плода при меньшем градиенте концентрации. Во-вторых, это особенности гемодинамики плода, при которых более насыщенная кислородом кровь из пупочной вены направляется через овальное окно в левую часть сердца, поставляя более насыщенную кислородом кровь через аорту в сонные и коронарные артерии к мозгу и сердцу плода [52]. В-третьих, это высокая скорость перфузии тканей и высокие уровни гемоглобина по сравнению с взрослыми и детьми, повышает способность крови плода транспортировать кислород [52].

Нарушение плацентарного кровотока и, соответственно, уменьшение поступления кислорода, инициирует важные циркуляторные и нециркуляторные приспособительные механизмы у плода. Циркуляторные изменения связаны с перераспределением сердечного выброса и «централизацией» кровотока в жизненно важных органах, а нециркуляторные реакции - с сохранением жизнеспособности клеток. При тяжелой или длительной остановке плацентарного кровотока, эти адаптивные механизмы могут декомпенсироваться и увеличивать риск повреждения органов-мишеней.

### **1.3.1. Циркуляторные изменения у плода/ребенка во время родов**

Во время нормальных родов вследствие сокращения матки происходит снижение кровотока в межворсинчатом пространстве, что приводит к незначительному и непродолжительному нарушению трансплацентарного газообмена [53], при котором пупочный кровоток не меняется [54]. В то же время у плодов с артериальным рН менее 7,1 возникает повышенная резистентность сосудов, приводящая к нарушению плацентарного кровотока при сокращениях [55]. Когда плацентарный кровоток является скомпрометированным, плод стремится перераспределить сердечный выброс, чтобы защитить более жизненно важные органы (например, головной мозг, миокард и надпочечники) от дефицита кислорода. За счет

«дайвинг-рефлекса» уменьшается поток крови к менее жизненно важным органам, таким как почки, кишечник, кожа и мышцы [56]. Централизация кровообращения происходит благодаря активации хеморецепторов сонной артерии, при которой высвобождаются катехоламины, сужающие периферические сосуды. Для сохранения мозговой циркуляции увеличивается право-левое шунтирование через овальное окно для повышения доставки более насыщенной кислородом крови к левым отделам сердца, откуда она направляется преимущественно в головной мозг и миокард. Адаптивные механизмы происходят непосредственно и в самой мозговой циркуляции. В частности, снижается церебральный сосудистый сопротивление для компенсации гипоксемии при первичной асфиксии, в свою очередь увеличивает мозговой кровоток [20, 57, 58]. Но при очень низком системном артериальном давлении наступает декомпенсация адаптивных циркуляторных механизмов, при которой прекращается доставка кислорода к мозгу, в результате чего и происходит повреждение головного мозга.

Хотя «дайвинг-рефлекс» представляет собой идеальный путь для сохранения функции критического органа, оказывается, не у всех новорожденных эти защитные адаптационные механизмы работают последовательно. Ученые предполагают, что варибельность активации «дайвинг-рефлекса» вследствие генетически детерминированных адаптивных механизмов, способствует развитию различных клинических сценариев полиорганной дисфункции у разных пациентов, которые на первый взгляд имели одинаковое гипоксическое событие [59].

### **1.3.2. Нециркуляторный ответ плода/ребенка на гипоксию/асфикию**

Некоторые биологические механизмы помогают в сохранении жизнеспособности критических органов у новорожденных при и после асфиксии. Во-первых, это более низкий церебральный метаболизм у плода, чем у доношенных новорожденных или взрослых, создает более

благоприятное соотношение между обеспечением энергией и ее затратами [52]. Во-вторых, это способность мозга новорожденного использовать альтернативные источники энергии (лактат и кетоны) в случае относительного истощения кислорода и глюкозы [60], которые становятся критически важными для церебрального метаболизма [61]. В-третьих миокард плода и новорожденного является более устойчивым к гипоксии-ишемии, чем миокард взрослого [62], и в-четвертых, защитные эффекты фетального гемоглобина обуславливают большую устойчивость плода к гипоксической среде [63].

Известно, что именно нарушение газообмена кислорода и углекислого газа через плаценту является признаком перинатальной асфиксии [52]. Кислород транспортируется с помощью простой диффузии пассивным, энергетически независимым путем. Когда потребность плода в кислороде превышает его плацентарную доставку, для обеспечения энергетических потребностей клетки прибегают к анаэробному дыханию, при котором накапливается молочная кислота и, соответственно, снижается рН.

Двуокись углерода, которая вырабатывается плодом, транспортируется в кровь в 3-х формах: в эритроцитах как бикарбонат, с гемоглобином в виде карбамата и в виде растворенного газа. Несмотря на то, что растворенный  $\text{CO}_2$  составляет меньшую пропорцию общего количества  $\text{CO}_2$  в крови, чем бикарбонат и карбамат, он отвечает за большинство плацентарной трансфузии, при этом  $\text{CO}_2$  диффундирует достаточно быстро, примерно в 20 раз быстрее, чем кислород, поэтому транспорт последнего зависит преимущественно от состояния маточно-плацентарного и фетоплацентарного кровотока [64].

Ухудшение обмена как кислорода, так и  $\text{CO}_2$  способствует развитию ацидоза. Фетальный ацидоз возникает в результате: (1) избытка диоксида углерода и угольной кислоты (2) избытка неуглеводной или метаболической кислоты (например, молочной, мочевой или кетокислот) или (3) избытке как угольной, так и не угольных кислот [64]. Несмотря на то, что углекислый газ

быстро диффундирует через плаценту и выводится из организма с помощью материнских легких [65], снижение рН у плода вследствие накопления углекислого газа может, как быстро возникнуть, так и быстро исчезнуть. В противоположность этому не угольные кислоты медленно диффундируют через плаценту в кровоток матери, поэтому накопление первичной не угольной кислоты, молочной кислоты происходит медленнее, что приводит к более устойчивому ацидозу, степень которого может быть связана как с тяжестью, так и с продолжительностью гипоксически-ишемического инсульта [64].

Сегодня имеется достаточное количество работ, которые свидетельствуют, что прогнозирование развития асфиксии и ее негативных последствий по уровню рН пуповинной артериальной крови остается неточным. Традиционно асфиксию определяли при рН пуповинной артерии  $<7,20$  [66]. Тяжелый ацидоз плода или рН в пуповинной артерии  $<7,0$  отражает степень ацидоза, при котором увеличивается риск возникновения неблагоприятных неврологических осложнений [66, 67]. Однако даже при такой степени ацидоза, вероятность дальнейшего повреждения головного мозга остается на низком уровне. Большинство этих новорожденных ( $> 60\%$ ) рождаются обычным путем, хорошо себя чувствуют в роддоме и выписываются домой без осложнений [68]. Даже когда дети с тяжелой формой фетальной ацидемии поступают в ОИТ (как правило, из-за проблем с дыханием), около 80% из них демонстрируют удовлетворительный неврологический прогноз, и только у небольшого процента детей разовьется энцефалопатия [69, 70]. Таким образом, наличие тяжелой ацидемии плода хотя и является маркером стресса, но не может быть чувствительным предиктором тяжелого поражения головного мозга. Однако когда тяжелая ацидемия сочетается с брадикардией, которая требовала проведения первичной реанимации, развитие существенного интранатально инсульта является более вероятным. Именно в этом случае перфузия головного мозга и транспорт кислорода могут быть скомпрометированными, что приводит к

инициации каскада сложных, взаимосвязанных реакций, которые в конечном итоге могут привести к гибели клеток через некроз или апоптоз. При некрозе, который возникает после первичного гипоксически-ишемического инсульта, происходит набухание клеток, разрушение органелл и потеря целостности фосфолипидов мембран с лизисом клеток быстро приводит к тяжелому нарушению функции клеток [71]. Во время вторичной недостаточности энергии возникают реперфузионное повреждение за счет расширенных реакций от первичного инсульта, которые характеризуются воспалением, генерацией активных форм кислорода и свободных радикалов, а главное - гибелью клеток через апоптоз [72]. Последний может быть индуцированный через каспад-зависимые или каспад-независимые (транскрипция гена) процессы [73]. Следует отметить, что патогенетический процесс смерти клеток включает в себя образование свободных радикалов, окиси азота и продуктов перекисного окисления липидов клеточных мембран [20, 74, 75], то есть соединений, по которым можно прогнозировать тяжесть течения заболевания. Результаты исследований, проведенных в последнее десятилетие, свидетельствуют о влиянии инфекции на нециркуляторную адаптацию плода / новорожденного к гипоксии/асфиксии. В частности, взаимосвязь между иммунной и нервной системами была в центре внимания нескольких исследований, особенно в контексте патогенеза, при котором длительное или чрезмерное воспаление было связано с нейротоксичностью и многочисленными патологиями нервной системы [76, 77]. Значительная роль при этом отводится цитокинам - группе белков, объединяющим нервную, эндокринную и иммунную системы [78] и которые являются посредниками в развитии перинатальных повреждений головного мозга [79-81] через непосредственное усиления воспалительных каскадов в предварительно поврежденной ЦНС [82]. Считается, что гипоксия / асфиксия и инфекции потенцируют системный воспалительный ответ, связанный с повышением концентрации цитокинов [83-85], что подтверждается повышенными концентрациями IL6 и IL8 в ликворе и сыворотке у доношенных детей при



асфиксии [86]. При этом более высокие концентрации IL1, IL6, TNF- $\alpha$  и IL8 в крови новорожденных с ГИЭ ассоциируются с неблагоприятными неврологическими результатами [87, 88]. В работе Н. Aly с соавтор. показано, что уровни IL1, IL6 и TNF- $\alpha$  в крови, коррелируют с уровнем IL1 в спинномозговой жидкости и соответственно с развитием ГИЭ у новорожденных [89]. О связи асфиксии с воспалением свидетельствуют и работы других ученых. В частности, в исследовании I.N. Mir изучено патогистологические изменения плаценты у новорожденных с ацидозом и НЭ [33], в котором было обнаружено плацентарные аномалии в 95% случаях, изменения, которые отвечали критериям диагноза глобальной плацентарной патологии, в 65% случаев, хориоамнионит в 54% случаев и хроническое воспаление ворсинок в 11%. Эти данные позволяют предположить важный вклад плацентарных воспалительных механизмов в тяжесть асфиксии. Ключевым интерфейсом молекулярного и клеточного обмена между кровью и нервной тканью является нейрососудистый участок, который включает в себя гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [90], который может изменяться за счет циркуляции факторов, секретируемых непосредственно микроглией или факторами, транспортируемыми из отдаленных органов [91]. В месте гипоксически-ишемического поражения происходит активация микроглии, которая приобретает макрофагоподобные возможности, в том числе способность к фагоцитозу, синтезу цитокинов и хемокинов, а также высвобождению матричных металлопротеиназ, которые ослабляют ГЭБ [7]. В результате периферические лейкоциты проникают в мозг, что приводит к увеличению воспаления и нейроповреждения. К широко известным факторам, которые активируются гипоксией и ухудшают проникновение ГЭБ, относят интерлейкины (IL1 $\alpha$ , IL1, IL6), фактор некроза опухоли альфа (ФНО), свободные радикалы и оксида азота [90]. Несмотря на то, что повреждение клеток при асфиксии ассоциируется с микроглией-опосредованным воспалением [92-94], определение воспалительных маркеров возможно может быть полезным в диагностике поражений органов

и систем, индуцированных асфиксией, а понимание модуляции сывороточных цитокинов позволит лучше прогнозировать развитие органных дисфункций, наметить пути лечения детей с указанной патологией и их ответ на нейропротекторную терапию. По мнению ученых полиорганная дисфункция является интегральной частью ГИЭ; следовательно, многие органы, дополнительно гематоэнцефалическому барьера, могут внести свой вклад в воспалительный ответ [91]

#### **1.4 Обоснование выбора генов-кандидатов при изучении ассоциаций между асфиксией и развитием органных дисфункций у новорожденных при асфиксии**

В последнее время значительное внимание уделяется поиску наследственных факторов, которые способствуют развитию того или иного заболевания или обуславливают его более тяжелое течение. Ввиду наличия циркуляторных механизмов в развитии органных дисфункций при асфиксии мы предположили, что гены *PAC* могут играть определенную роль в их развитии. Среди генов-кандидатов гены *ACE*, *AGTR1* и *eNOS* является биологически и клинически значимыми в формировании фенотипических особенностей течения большинства заболеваний перинатального периода [170]. Генетический полиморфизм этих ключевых генов создает основу для изучения ассоциаций между генетическими вариантами указанных генов и развитием асфиксии у доношенных новорожденных.

Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) - это циркулирующий во внеклеточном пространстве фермент (экзопептидаза), который катализирует расщепление ангиотензина I (декапептида) ангиотензина II (октапептида), обе формы ангиотензина играют важную роль в регуляции системного артериального давления. Другой функцией АПФ деактивация брадикинина и участие в регуляции воспаления. Также АПФ участвует во многих других физиологических процессах - обмене нейропептидов, репродуктивных процессах, иммунных реакциях организма [171]. Ангиотензин-превращающий фермент является физиологическим регулятором

концентрации в плазме пептида *AcSDKP (N-AcSer-Asp-Lys-Pro)*, что влияет на пролиферацию гемопоэтических и других клеток [172]. В *ACE* гене известно более 20 видов полиморфизма, однако наиболее изученным является инсерционно-делеционный полиморфизм, который заключается в наличии или отсутствии фрагмента ДНК длиной 287 пар нуклеотидов в 16-м интроне. Установлено четкую зависимость между генотипом по гену *ACE* и активностью АПФ. Мета-анализ 29 исследований, где параллельно определялись полиморфизм гена *ACE* и уровень АПФ плазмы, обнаружил, что при наличии DD или ID-генотипа уровень АПФ плазмы выше по сравнению со II генотипом на 58% и 31% соответственно. Таким образом, эффект D-аллеля является кодоминантным. Важно отметить, что сам по себе I / D-полиморфизм не влияет на функцию белка АПФ, но отображается на его количестве. D-аллель гена у взрослых связывают с риском развития эссенциальной артериальной гипертензии, инфаркта миокарда, спазма коронарных сосудов, гипертрофии левого желудочка, кровоизлияний, а также атеросклероза [173].

Ангиотензин II проявляет сосудисто-суживающий эффект через его рецептор первого типа (*AGT2R1*), локализованный на плазматической мембране клеток тканей-мишеней. Ген рецептора 1 ангиотензина II, расположен на длинном плече 3-й хромосомы в локусе 3q21-q25, экспрессируется в гладкомышечных клетках сосудов и в миокарде и является G-протеиновым рецептором. Основная функция рецептора *AGT2R1* - связывание ангиотензина II и передача сигнала вазоконстрикции и пролиферации на гладкомышечную клетку. Известно около 20 полиморфных вариантов гена *AGT2R1*, наиболее изученным из которых является замена аденина на цитозин в позиции 1166 (A1166C). Известно, что C-аллель и CC генотип ассоциируются с повышенным уровнем артериального давления [174, 175].

Оксид азота также играет важную роль в поддержании гомеостаза [176-178]. Эта молекула образуется при действии фермента NO-синтазы (NOS), которая существует в виде трех основных изоформ: нейрональной NO-

синтазы (nNOS), эндотелиальной NO-синтазы (*eNOS*) и индуцибельной NO-синтазы (iNOS). Эндотелиальная NO-синтаза стабильно экспрессируется в эндотелиальных клетках [179]. Ген *eNOS* локализован на 7 хромосоме и кодирует белок, состоящий из 1203 аминокислот. В экзонах и интронах гена *eNOS* обнаружено несколько полиморфных участков, среди которых наиболее изученной является минисателлитный повтор в интроне 4 (4a / 4b полиморфизм) [180]. Именно полиморфизм *eNOS*, который заключается в изменении числа тандемных повторов (4b/a), отвечает за уровень NO в плазме [16].

Таким образом, несмотря на то, что изучение асфиксии у новорожденных проводится на протяжении многих лет, все еще не получены окончательные ответы относительно вклада генетической детерминанты в развитие органических дисфункций при асфиксии.

### **Выводы к разделу 1**

Патофизиологические механизмы, лежащие в основе полиорганной дисфункции, остаются недостаточно выясненными, особенно сложным является понимание взаимодействия различных метаболических путей у отдельного индивидуума. В случае гипоксии / асфиксии, когда происходит крупномасштабное разрушение нескольких метаболических путей, для понимания поведения всех биологических компонентов в системе необходимо применять интегрированный системный биологический подход, который позволяет охарактеризовать состояние метаболизма ребенка в определенный промежуток времени; качественно и количественно описать активацию и взаимодействие метаболических путей, то есть отразить фенотип младенца, в конечном итоге позволит определять степень тяжести поражения; прогнозировать ответ отдельного ребенка на лечение и предусматривать ее потенциальное дальнейшее развитие.

## РАЗДЕЛ 2

### АССОЦИАЦИИ МЕЖДУ ПОЛИМОРФИЗМОМ *ACE*, *AGT2R1*, *eNOS* ГЕНОВ И РАЗВИТИЕМ АСФИКСИИ У ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

Исследованиям влияния клинико-генетических детерминант на развитие асфиксии у доношенных новорожденных посвящен ряд работ [189, 190], однако роль генов РАС в возникновении заболевания остается невыясненной. Поэтому целью данного исследования стало определение ассоциаций между наличием у новорожденного полиморфных генетических вариантов генов ренин-ангиотензиновой системы (*ACE*, *AGT2R1*) и *eNOS* и развитием у него асфиксии, в т.ч. ее тяжелого течения. Наряду с генетическими детерминантами развития асфиксии исследовались другие группы факторов, в частности медико-демографические и анамнестические, которые, с одной стороны, позволили идентифицировать достоверные факторы риска развития асфиксии и тяжести ее течения, а с другого - минимизировать воздействие систематических ошибок, которые могли бы повлиять на конечные результаты нашего исследования, а именно доказательства связи между исследуемыми генетическими моделями генов *PAC*, *eNOS* и развитием асфиксии.

Для изучения влияния полиморфизма генов РАС на развитие асфиксии и ее тяжесть были применены следующие генетические модели:

- I/D полиморфизм гена *ACE* (71 ребенок с асфиксией и 35 здоровых детей): гомозиготное сопоставление (DD vs. II), гетерозиготное сопоставление (DI vs. II) доминантная (DD + DI vs. II) и рецессивная модели (DD vs. II + DI),

- C/A полиморфизм гена *AGT2R1* (71 ребенок с асфиксией и 35 здоровых детей): гомозиготное сопоставление (CC vs. AA), гетерозиготное сопоставление CA vs. AA, доминантная модель (CA + CC vs. AA),

- 4a/ b полиморфизм гена *eNOS* (70 детей с асфиксией и 35 здоровых детей): гомозиготное сопоставление (aa vs. bb), гетерозиготное

сопоставление (ab vs. bb), доминантная (aa + ab vs. bb) и рецессивная модели (bb vs. ab + bb).

Также изучалось совмещенное влияние генов PAC и *eNOS* на развитие органичных дисфункций в таких моделях:

1. комбинация доминантных моделей *ACE* и *AGT2R1* генов (DD + DI и CA + CC vs. II и AA)
2. комбинация доминантных моделей *ACE* и *eNOS* генов (DD + DI и aa + ab vs. II и bb)
3. комбинация доминантных моделей *AGT2R1* и *eNOS* генов (CA + CC и aa + ab vs. AA и bb).

Генетическое исследование проводилось в государственном учреждении «Референс-центр по молекулярной диагностики МЗ Украины». Материалом для проведения этого исследования была периферическая кровь новорожденных. Образцы крови у новорожденных отбирали в стерильные пробирки закрытой системы «Моноветт». После получения образцы хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения исследования. После процедуры выделения образцов ДНК из полученного материала, которую выполняли с помощью коммерческого набора реагентов «ДНК-сорб-В», проводили молекулярно-генетическое исследование с использованием методов полимеразной цепной реакции и полиморфизма длины рестрикционных фрагментов для последующего анализа. Анализ инерционно-делецийного полиморфизма гена *ACE* проводили с использованием мультиплексной полимеразной цепной реакции. Для определения полиморфных вариантов генов *AGT2R1* и *eNOS* также ставили полимеразную цепную реакцию с последующим рестрикционным анализом продуктов реакции амплификации. Детекцию продуктов полимеразной цепной реакции и рестрикционного анализа проводили в агарозном геле. Амплификации выделенной ДНК проводили в реакционной смеси с M. Arand [187]. Продукты амплификации участков генов *AGT2R1* и *eNOS* подлежали гидролитическому расщеплению с помощью эндонуклеазы рестрикции *Alw261*. Амплифицированные

фрагменты распределяли с использованием горизонтального электрофореза в 1,5% агарозном геле с окраской бромистым этидием.

Исследование показало, что распределение детей обследованных групп в соответствии с генотипом *ACE* гена был почти одинаковым. В частности, генотип II *ACE* гена обнаружен у 20,0% здоровых новорожденных и 14,1% детей с асфиксией, ID генотип у 62,7% здоровых детей и в 56,3% новорожденных с асфиксией, а DD вариант *ACE* гена - соответственно в 17,1% и 29,6% детей (табл. 2.1). При этом ни один из вариантов указанного гена не ассоциировался с развитием асфиксии.

Исследованием не выявлено достоверных различий в распределении здоровых детей и новорожденных с асфиксией в соответствии с AA, AC и CC генотипами *AGT2R1* гена.

Таблица 2.1

**Частота генетических моделей *ACE*, *AGT2R1*, *eNOS* генов среди здоровых новорожденных и детей с асфиксией**

Генетические модели	Здоровые дети (n=35)	Дети с асфиксией(n=71)	ОШ (95 %ДИ)	p
<i>ACE</i> : II vs. ID+DD	7 (20,0)	10 (14,01)	0,65 (0,22-1,9)	0,437
ID vs. DD+II	22 (62,7)	40 (56,3)	0,76 (0,33-1,74)	0,522
DD vs. II+ID	6 (17,1)	21 (29,6)	2,03 (0,73-5,61)	0,172
<i>AGT2R1</i> AA vs. AC+CC	26 (74,3)	49 (69,0)	0,77 (0,31-1,91)	0,575
AC vs. AA+CC	7 (20,0)	18 (25,4)	1,35 (0,51-3,64)	0,542
CC vs. AA+AC	2 (5,7)	4 (5,6)	0,98 (0,17-5,65)	0,987
<i>eNOS</i> ген:	(n=35)	(n=70)		
4aa vs. 4ab+4bb	0	4 (5,7)	-	0,149
4 ba vs. 4bb	7 (20,0)	24 (34,3)	2,22 (0,85-5,81)	0,104
4bb vs. 4aa+4bb	28 (80,0)	42 (60,0)	0,37 (0,14-0,97)	0,044
4aa +4ba vs. bb	7 (20,0)	28 (40,0)	2,67 (1,02-6,93)	0,044

Результаты исследования выявили наличие полиморфного 4aa варианта *eNOS* гена только у 4 (5,7 %) детей с асфиксией, 4ba вариант гена *eNOS* – у

20 % здоровых детей и у 34,3 % новорожденных с асфиксией, а 4bb вариант гена – у 80,0 % и у 60,0 % детей соответственно.

На основании того, что среди детей с асфиксией только четверо имели 4aa генотип, для дальнейшего анализа дети с генотипом 4aa или 4ab дополнительно были объединены в одну группу. При этом исследовании выяснено, что наличие у доношенных новорожденных генотипа 4aa или 4ba увеличивает шансы ребенка иметь асфиксию в 2,67 раза.

Среди обследованных детей с асфиксией 37 (51,4%) имели тяжелое течение, поэтому был проведенный анализ влияния генетических моделей генов ренин-ангиотензиновой системы на тяжесть асфиксии. Как представлено в табл. 2.2, отношение шансов иметь тяжелую асфиксию у ребенка с генотипом II *ACE* гена составляли 0,94,  $p = 0,942$ , а у детей с DD генотипом - 2,77,  $p = 0,055$ .

Таблица 2.2

**Частота генетических моделей *ACE*, *AGT2R1*, *eNOS* генов среди здоровых новорожденных и детей с тяжелой асфиксией, n (%)**

Генетические модели	Здоровые дети n=35	Дети с тяжелой асфиксией n=37	ОШ (95 % ДИ)	p
<i>ACE</i> : II vs. ID	7 (20,0) ()	6 (16,2)	0,94 (0,10-4,09)	0,942
ID vs. DD+II	22 (62,9)	18 (48,6)	1,11 (0,41-3,02)	0,50
DD vs. II+ID	6 (17,1)	13 (35,13)	2,77 (0,93-10,09)	0,055
<i>AGT2R1</i> AA vs. AC+CC	26 (74,3)	21 (56,7)	0,63 (0,25-1,63)	0,575
AC vs. AA+CC	7 (20,0)	12 (32,4)	1,13 (0,42-3,03)	0,50
CC vs. AA+AC	2 (5,7)	4 (10,8)	3,26 (0,36-29,82)	0,987
<i>eNOS</i> 4aa vs. 4ab+4bb	0	2 з 35 (5,7)	-	
4 ba vs. 4bb	7 (20,0)	8 з 35 (22,9)	1,18 (0,32-4,42)	0,77
4bb vs. 4aa+4bb	28 (80,0)	25 з 35 (71,4)	0,62 (0,17-2,15)	0,70
4aa +4ba vs. bb	7 (20,0)	10 з 35 (28,6)	1,6 (0,46-5,73)	0,70



Таким образом, II генотип *ACE* гена достоверно уменьшает шансы ребенка, а DD генотип наоборот почти в три раза увеличивает шансы ребенка иметь тяжелое течение асфиксии. Ни одна из изученных нами генетических моделей *eNOS*, *AGT2R1* генов не ассоциировалась с тяжелой асфиксией.

Таким образом, доказано наличие ассоциаций между 4a/b полиморфизмом *eNOS* гена и развитием асфиксии у доношенных новорожденных, а I/D полиморфизм *ACE* гена - с его тяжелым течением.

Исследование показало, что наличие у ребенка сочетание доминантного модели (ID + DD vs. II) *ACE* гена и доминантной модели (AC + CC vs. AA) *AGT2R1* гена не ассоциируется с развитием асфиксии у доношенных новорожденных.

Нами не получено достоверных различий в частоте выявления среди детей с асфиксией и детей группы сравнения сочетания доминантных моделей *ACE* и *eNOS* генов. Однако нами выявлена связь на грани статистической значимости между развитием асфиксии и наличием у ребенка сочетания доминантного (ID + DD vs. II) модели *AGT2R1* гена и доминантной модели (4AA + 4ba vs. bb) *eNOS* гена.

Для выяснения роли генного полиморфизма *ACE* и *AGT2R1* генов в развитии перинатальной патологии у доношенных и недоношенных детей необходимы дальнейшие исследования на большей когорте новорожденных с целью доказательства эффективности внедрения молекулярно-генетического скрининга у новорожденных, которые лечатся в неонатальных ОИТ, что, в свою очередь, позволит выявлять новорожденных с риском развития тяжелого течения асфиксии, органических дисфункций и повышенной потребностью в применении «органопротезирующих» технологий.

## **Выводы к разделу 2**

1. *ACE* I/D полиморфизм достоверно ассоциируется с тяжелым течением асфиксии в одной генетической модели - гомозиготном сопоставлении: DD vs. II (ОШ 2,77,  $p = 0,05$ ).

2. 4bb генотип *eNOS* гена связан с повышенной устойчивостью доношенных новорожденных к развитию асфиксии, а 4AA или 4ba генотип - с повышенной восприимчивостью к указанному заболеванию, в частности наличие у ребенка 4AA или 4ba генотипа *eNOS* гена в 2,67 раза повышает ее шансы иметь асфиксию (95% ДИ 1,02-6,93,  $p = 0,044$ ).

3. Комбинация доминантной модели (ID + DD vs. II) ACE гена с доминантной моделью (4AA + 4ba vs. bb) *eNOS* гена в 2,7 раза повышает шансы ребенка иметь асфиксию.

### РАЗДЕЛ 3

## **АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ, КЛИНИКО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ РАЗВИТИЯ ДИСФУНКЦИИ ВИТАЛЬНЫХ ОРГАНОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ АСФИКСИИ**

Общеизвестно, что асфиксия при рождении приводит к развитию гипоксически-ишемической энцефалопатии и полиорганной недостаточности. Сердечно-сосудистая система является наиболее значимой в каскаде патогенетических реакций, которые происходят при асфиксии, так как именно нестабильность гемодинамики, возникающая в результате внутриутробной, интранатальной или постнатальной гипоксии / асфиксии, влияет на другие органы и системы организма и предопределяет адаптационный ответ ребенка на действие гипоксии/асфиксии.

### **3.1. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия у новорожденных и факторы риска ее развития**

Гипоксически-ишемическая энцефалопатия – это «нарушение неврологической функции в первые дни жизни (начало 1-3 день жизни), которое манифестирует трудностями в инициации и поддержании дыхания, снижении тонуса или рефлексов, нарушенным уровнем сознания и часто судорогами» [95]. Неонатальная энцефалопатия впервые определена Sarnat и Sarnat [96] с использованием клинических и электроэнцефалографических критериев и имеет легкую, среднюю и тяжелую стадии.

Термины «постасфиктическая энцефалопатия (ПАЭ)» и «гипоксически ишемическая энцефалопатия (ГИЭ)» использовались с 1970-х с целью обращения внимания на причины развития энцефалопатии, ассоциируются с интранатальным повреждением. Учитывая наличие других возможных причин развития энцефалопатии, а также на трудности доказательства причинно-следственной связи, термин неонатальная энцефалопатия в данный момент считается лучшим, а недавние рекомендации консенсуса ограничивают использование терминов ПАЭ и ГИЭ [97]. Термин ГИЭ рекомендуется применять при наличии у ребенка четких доказательств

интранатального инсульта, низкого уровня рН артериальной пуповинной крови, специфических изменениях при МРТ и низкой оценки по шкале Апгар [34], хотя эти критерии до сих пор остаются спорными.

В последние годы прогнозирование развития ГИЭ у новорожденных при асфиксии приобретает особую актуальность в связи с более распространенным применением лечебной гипотермии. Поэтому несмотря на сложную патофизиологию, связанную с неопределенностью срока, тяжестью и паттернах фетального инсульта [104], новорожденные с ГИЭ в настоящее время рассматриваются дихотомически [105]: те, кто нуждаются в гипотермии и те, кто нет. Однако диагностические критерии для этого выбора ограничены. В частности, раннее неврологическое обследование имеет ограниченную прогностическую ценность и впечатляющую гетерогенность между группами детей с умеренной и тяжелой асфиксией [106-108]. Амплитудная электроэнцефалограмма является хорошим физиологическим маркером целостности нейронов, но ее прогностическая ценность ослабляется при гипотермии [109], МРТ головного мозга считается лучшим краткосрочным маркером последствий в раннем детстве [110, 111], но имеет низкую чувствительность в первые сутки жизни. Поэтому идеальный биомаркер, который позволит стратифицировать детей относительно тяжести инсульта путем выявления тех, кому гипотермия будет наиболее полезна [112-115], должен измеряться в реальном времени и непосредственно отражать функцию сосудисто-нервной звена.

### **3.1.1. Анамнестические и клиничко-метаболические детерминанты развития гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных при асфиксии**

В группу новорожденных с ГИЭ были отнесены дети ( $n = 28$ ), которые имели умеренную или тяжелую стадию по Sarnat и Sarnat согласно Приказу МОЗ Украины № 312 от 2007 года. В группу детей без ГИЭ отнесены новорожденные ( $n = 44$ ), которые не имели проявлений указанного состояния. Бесспорно асфиксия - это состояние, развитие которого

обусловлено особенностями течения беременности и родов, а также состоянием матери. Поэтому мы проанализировали перинатальный анамнез матерей обследованных детей (табл. 3.1).

Таблица 3.1

**Материнские, акушерские и антенатальные факторы риска  
развития ГИЭ, n (%)**

Факторы риска (да, нет)	Дети без ГИЭ n=44	Дети с ГИЭ n=28	P	ОШ 95% ДИ	p
<i>Материнские факторы и акушерский анамнез:</i>					
Возраст матери:					
<20 лет	5 (11,4)	2 (7,1)	0,698	0,6 (0,11-3,33)	0,559
≥35 лет	5 (11,4)	2 (7,1)	0,698	0,6 (0,11-3,33)	0,559
Сердечно-сосудистые заболевания	3 (6,8)	1 (3,6)	0,558	0,51 (0,05-5,12)	0,564
Анемия	8 (18,2)	2 (7,1)	0,187	0,34 (0,07-1,77)	0,202
Эндокринные заболевания	1 (2,3)	1 (3,6)	0,630	1,59 (0,09-26,54)	0,746
Репродуктивные потери	5 (11,4)	2 (7,1)	0,698	0,6 (0,11-3,33)	0,559
<i>Осложнения во время беременности:</i>					
Преэклампсия	7 (15,9)	2 (7,1)	0,273	0,41 (0,08-2,11)	0,285
Преждевременное излитие околоплодных вод	3 (6,8)	2 (7,1)	0,958	1,05 (0,16-6,77)	0,958
Урогенитальные инфекции	4 (9,1)	1 (3,6)	0,642	0,37 (0,04-3,49)	0,386
Угроза прерывания	13 (29,5)	12 (42,9)	0,247	1,79 (0,66-4,81)	0,250
Плацентарная недостаточность	13 (29,5)	5 (17,9)	0,264	0,52 (0,16-1,66)	0,269

Ни один из проанализированных нами факторов, характеризующих состояние матери и ее акушерский анамнез, не ассоциировался с развитием ГИЭ у детей с асфиксией. Исследование связи между действием интранатальных факторов риска и развитием ГИЭ у новорожденных с асфиксией выявило наличие достоверных ассоциаций между слабостью родовой деятельности и развитием указанного состояния (табл.3.2). Возможно, слабость родовой деятельности коррелировалась введением окситоцина, который вызывает усиление сокращений матки с ухудшением плацентарного кровотока и развитием, соответственно, ацидемия плода [194].

Таблица 3.2

**Интранатальные факторы риска развития гипоксически-ишемической энцефалопатии , n (%)**

Факторы риска, (да, нет)	Дети без ГИЭ n=44	Дети с ГИЭ n=28	P	ОШ 95% ДИ	p
Первые роды	32 (72,7)	23 (82,1)	0,359	1,72 (0,53-5,57)	0,362
Преждевременное излитие околоплодных вод	3 (6,8)	2 (7,1)	0,958	1,05 (0,16-6,77)	0,958
Отслойка плаценты	1 (2,3)	0	0,611	-	-
Слабость родовой деятельности	5 (11,4)	9 (32,1)	0,030	3,69 (1,09-12,5)	0,036
Обвитие пуповиной	9 (20,5)	4 (14,3)	0,507	0,64 (0,18-2,35)	0,509
Индукция родов	2 (4,6)	5 (17,9)	0,063	4,56 (0,82-25,4)	0,083
Дистресс плода	6 (13,6)	3 (10,7)	0,715	0,76 (0,17-3,32)	0,715
Заболевания матери во время родов	3 (6,8)	3 (10,7)	0,672	1,64 (0,31-8,76)	0,593
Наложение щипцов	2 (4,6)	1 (3,6)	0,840	0,77 (0,07-9,0)	0,841
Плановое кесарево сечение	9 (20,5)	2 (7,1)	0,126	0,29 (0,06-1,5)	0,143
Ургентное кесарево сечение	5 (11,4)	1 (3,6)	0,394	0,29 (0,03-2,61)	0,269

Подтверждением этому является и полученная нами статистически значимая связь ( $p < 0,1$ ) ГИЭ с индукцией родов. На сегодня считается, что острое гипоксическое событие именно во время родов является основной причиной развития ГИЭ [34, 195]. Что касается других интранатальных факторов риска, то нами не получено достоверного влияния на развитие ГИЭ таких факторов как отслойка плаценты, обвитие пуповиной, дистресс плода, заболевания матери, наложение щипцов и операции кесарева сечения. Анализ состояния детей сразу после рождения показал, что дети с ГИЭ имели достоверно более низкую оценку по шкале Апгар как на первой, так и на пятой минутах жизни (табл.3.3).

Таблица 3.3

**Оценка состояния ребенка по шкале Апгар и объем реанимационных мероприятий у детей в зависимости от наличия или отсутствия ГИЭ**

Показатели	Дети без ГИЭ n=44	Дети с ГИЭ n=28	p	ОШ 95% ДИ	p
<i>Оценка по шкале Апгар, баллы [Me(Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)]:</i>					
1 минута	4 (3-5)	3 (2-3)	0,0001	0,49 (0,33-0,73)	0,001
5 минута	6 (5-6)	4,5 (4-6)	0,0014	0,55 (0,36-0,84)	0,006
Апгар на 5 мин. <5 баллов, n (%)	8 (18,2)	14 (50,0)	0,004	4,5 (1,55-13,06)	0,006
<i>Объем реанимационных мероприятий, n(%):</i>					
ИВЛ	30 (68,2)	26 (92,9)	0,014	6,07 (1,24-29,22)	0,025
Массаж сердца	7 (15,9)	8 (28,6)	0,197	2,11 (0,67-6,6)	0,202
Адреналин	3 (6,8)	4 (14,3)	0,297	2,27 (0,46-11,05)	0,307
0,9 % раствор NaCl	7 (15,9)	17 (60,7)	0,000	8,17 (2,69-24,73)	0,000
4,0% раствор NaHCO <sub>3</sub>	5 (11,4)	4 (14,3)	0,715	1,3 (0,31-5,3)	0,715

Так, у детей с ГИЭ медианный показатель оценки на 1 мин. составил 3 балла, а у детей без ГИЭ - 4 балла,  $p < 0,001$ . При этом каждый дополнительный балл уменьшал шансы ребенка иметь ГИЭ в 0,5 раза. На 5

минуте жизни медианный показатель у детей с ГИЭ составил 4,5 балла против 6 баллов у детей без проявлений указанного состояния, а каждый дополнительный балл уменьшал шансы ребенка иметь ГИЭ в 0,6 раза. Анализ клинического течения ГИЭ у новорожденных с асфиксией показал, что в 92,9% (n = 26) младенцев отмечалось угнетение, в 82,1% (n = 23) младенцев - судороги, в 39,3% (n=11) младенцев - повышенная возбудимость, у 14,3% (n=4) младенцев - мозговая кома и у одного ребенка (3,3%) - внутрижелудочковые кровоизлияния. У детей с асфиксией ГИЭ чаще всего сочеталась с ДР (табл.3.4).

*Таблица 3.4*

**Частота развития синдромов, характеризующих поражение других органов и систем у детей в зависимости от наличия или отсутствия ГИЭ**

Синдромы	Дети без ГИЭ n=44	Дети с ГИЭ n=28	p
Дыхательные расстройства	27 (61,4)	25 (89,3)	0,010
Артериальная гипотензия	16 (36,4)	15 (53,6)	0,151
Дисфункции ЖКТ	14 (31,8)	15 (53,6)	0,067
Острое повреждение почек	11 (25,0)	9 (32,1)	0,509
Дисфункция миокарда	7 (15,9)	6 (21,4)	0,553
Синдром мекониальной аспирации	11 (25,0)	3 (10,7)	0,135

При этом у детей с ГЭ дыхательные расстройства выявлялись достоверно чаще, чем у детей без проявлений указанного состояния. Почти у половины детей с ГИЭ зафиксировано артериальная гипотензия и дисфункции ЖКТ, при этом частота их развития не отличалась от частоты указанных состояний среди детей без проявлений ГИЭ. Почти у трети младенцев с ГИЭ наблюдалось острое поражение почек и у 21,4% детей - дисфункции миокарда.



Известно, что депрессия дыхания является одним из проявлений асфиксии, в т.ч. и ГИЭ. Медианный показатель продолжительности ИВЛ у детей с ГИЭ был достоверно выше аналогичного показателя у детей без указанного состояния (6 суток против 4 суток,  $p = 0,025$ ), при этом каждый дополнительный день ИВЛ увеличивал шансы ребенка иметь ГИЭ в 1,27 раза ( $p = 0,040$ ). Этот факт можно объяснить тем, что с одной стороны, тяжесть ГИЭ обуславливает потребность в длительной ИВЛ, а с другой - пролонгация ИВЛ при несоответствующем мониторинге кислотно-щелочного состояния ребенка может ухудшать метаболические процессы в головном мозге и усиливать проявления ГИЭ. Дети как с ГИЭ, так и без нее, требовали применения кислородной терапии, но в пределах 30-40% и медианный показатель максимального уровня кислорода у детей обследованных групп не отличался.

Однако продолжительность кислородной терапии у детей с ГИЭ была достоверно длиннее, чем у детей без ГИЭ (7 суток против 2,5 суток,  $p = 0,07$ ), а шансы ребенка иметь указанное состояние увеличивались при каждом дополнительном дне проведения кислородной терапии.

На сегодняшний день есть доказательства влияния некоторых инфекционных заболеваний на углубления интранатального гипоксического события и перинатального повреждения мозга, в частности предложена гипотеза двойного удара [197], при которой происходит активация целого ряда метаболических реакций, в частности синтеза цитокинов IL-1, IL-6, что ухудшает адаптацию ребенка к гипоксии. Интерлейкин-1 $\beta$  относится к ключевым противовоспалительным цитокинам, действует в мозгу как медиатор защитного ответа человека на травму, вызывает отек мозга, специфически действует на стриатум, вызывая поражения отдаленных участков коры мозга [198]. Интерлейкин-6 является одним из белков межклеточного взаимодействия, который секретируется при воспалении, осуществляет разнонаправленное влияние на системы организма и в комплексе с гипоксически обусловленными метаболическими изменениями у

новорожденного приводит к нарушению его дальнейшего неврологического развития. Поэтому для определения роли воспаления в развитии ГИЭ нами проанализирован уровень цитокинов ИЛ1, ИЛ6, лейкоцитов, палочкоядерных лейкоцитов и С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови. Результаты исследования показали, что у новорожденных с асфиксией уровень лейкоцитов на 1 сутки жизни достоверно ассоциировался с развитием ГИЭ, однако другие маркеры воспаления, такие как палочкоядерные нейтрофилы и СРБ - нет (табл.3.5).

Таблица 3.5

**Ассоциации между гипоксически-ишемической энцефалопатией  
и общими воспалительными биомаркерами у новорожденных  
при асфиксии**

Показатели [Me(Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> )]	Дети без ГИЭ n=44	Дети с ГИЭ n=28	p	ОШ 95% ДИ	p
Лейкоциты (10 <sup>9</sup> /л),	14,7 (12-18,2)	15,2 (13,5-24)	0,257	1,05 (1,001-1,11)	0,027
Палочкоядерные нейтрофилы, (%)	13,5 (9,5-16)	14 (10,5-17)	0,566	1,07 (0,99-1,15)	0,062
Тромбоциты, (10 <sup>9</sup> /л)	190 (187-210)	195 (180-220)	0,744	1,001 (0,99-1,02)	0,414
СРБ, (мг/л)	6 (6-6)	6 (6-6)	0,293	1,14 (0,80-1,61)	0,470
ИЛ <sub>1</sub> (пг/мл),	0,7 (0,4-1,2)	0,9 (0,6-1,2)	0,362	1,54 (0,78-3,05)	0,213
ИЛ <sub>6</sub> (пг/мл),	25,8 (19,1-36,7)	26,9 (22,5-40,2)	0,563	1,02 (0,98-1,06)	0,311

Изучение метаболических биомаркеров развития ГИЭ выявило достоверно более высокий уровень креатинина в сыворотке крови среди детей с ГИЭ по сравнению с детьми без указанного состояния (Me = 91 мкмоль/л против Me = 64 мкмоль/л, p = 0,0007). При этом повышение уровня креатинина на 1 единицу увеличивает шансы ребенка иметь ГИЭ в 1,03 раза.

Таким образом, повышение креатинина у новорожденных при асфиксии косвенно может быть маркером тяжести ацидоза и свидетельствовать о продолжительности ацидемия у плода.

Исследованием выявлено достоверные ассоциации между повышенным уровнем ЛДГ в сыворотке крови и развитием ГИЭ у доношенных новорожденных с асфиксией. Лактатдегидрогеназа - это фермент, который есть почти во всех клетках организма человека и который участвует в процессах гликолиза, катализируя преобразования лактата в пировиноградную кислоту.

Так как этот процесс образования энергии может происходить без кислорода, следует считать, что у ребенка при повышении ЛДГ преобладают механизмы гликолиза, что свидетельствует о значительной гипоксии тканей, в т.ч. головного мозга. Результаты наших исследований совпадают с данными других ученых, в частности в работе М. Karlsson показано, что наличие повышенного уровня ЛДГ является предиктором развития ГИЭ у новорожденных в первые 12:00 после рождения [201].

Таким образом, простым логистическим регрессионным анализом нами обнаружено достоверная связь между ГИЭ и слабостью родовой деятельности, введением физиологического раствора при проведении реанимации, повышенным уровнем лейкоцитов, креатинина и ЛДГ в сыворотке крови новорожденных с асфиксией.

### **3.1.2. Генетические детерминанты развития гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных при асфиксии**

Следующим шагом нашего исследования стало выяснение роли *ACE*, *AGT2R1* и *eNOS* полиморфизма в развитии ГИЭ среди новорожденных при асфиксии. Исследование показало, что ни одна из исследованных генетических моделей не ассоциировалась с развитием ГИЭ. Сочетание полиморфных генов также не ассоциировалось с развитием ГИЭ (табл.3.6)

Таблица 3.6

**Частота развития ГИЭ у детей, стратифицированных в зависимости от сочетания генетических моделей ACE, AGT2R1, eNOS генов**

Генетические модели	Дети без ГИЭ	Дети с ГИЭ	P	OШ (95% ДИ)	P
<b>ACE и AGT2R1:</b>	n=43	n=28			
ID+DD та AC+CC vs. II та AA	9 (20,9)	8 (28,6)	0,461	1,51 (0,50-4,54)	0,461
II та AA vs. ID+DD та AC+CC	34 (79,1)	20 (71,4)	0,461	0,66 (0,19-2,33)	0,461
<b>ACE и eNOS:</b>	n=43	n=27			
ID+DD та 4aa+4ab vs. II та 4bb	17 (39,5)	8 (29,6)	0,400	0,64 (0,23-1,79)	0,399
II та 4bb vs. ID+DD та 4aa+4ab	26 (60,5)	19 (70,4)	0,400	1,55 (0,50-5,05)	0,399
<b>AGT2R1 и eNOS:</b>	n=43	n=27			
AC+CC та 4aa+4ab vs. AA та 4bb	6 (14)	4 (14,8)	0,920	1,07 (0,27-4,21)	0,920
AA та 4bb vs. AC+CC та 4aa+4ab	37 (86,1)	23 (85,2)	0,920	0,93 (0,19-4,99)	0,920

Таким образом, ми не получили достоверной связи между исследованными генетическими вариантами генов PАС и развитием ГИЭ у новорожденных с асфиксией, поэтому мы проанализировали наличие ассоциаций между I/D полиморфизмом ACE гена, A/C полиморфизмом AGT2R1 гена, 4a/4b полиморфизмом eNOS гена и уровнем ранних маркеров ГИЭ – креатинина и ЛДГ.

Как свидетельствуют результаты исследования, генетическая модель AC+CC vs. AA гена AGT2R1 достоверно связана с повышенным уровнем креатинина – OШ 1,02 95% ДИ 1,00-1,03 (табл.3.7).

Результаты нашей работы совпадают с результатами исследований, проведенных у взрослых. В частности доказано, что применение ингибиторов первого рецептора ангиотензина II у взрослых сопровождаются

повышением креатинина, то есть при блокировании функции *AGT2R1* гена может повышаться уровень креатинина в сыворотке крови [202].

Таблица 3.7

**Ассоциации между уровнем креатинина и генетическими моделями генов *ACE*, *AGT2R1* и *eNOS* у новорожденных при асфиксии**

Генетические модели	Уровень креатинина, мкмоль/л [Me(Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> )]	ОШ	95% ДИ	P
<i>ACE</i> ген:				
II <sup>1</sup>	67 [64-106]	1,00	0,98-1,03	0,752
ID <sup>2</sup>	68 [62-101]; p <sup>1-2</sup> =0,588	0,99	0,98-1,01	0,949
DD <sup>3</sup>	65 [59-85,2]; p <sup>1-3</sup> =0,223; p <sup>2-3</sup> =0,448	0,99	0,97-1,02	0,841
<i>AGT2R1</i> ген:				
AA	66,5 (60-77,8)	0,98	0,96-0,99	0,018
AC+CC	89,4 (62-128,2); p=0,094	1,02	1,00-1,03	0,018
<i>eNOS</i> ген:				
4 aa+4 ab	67 [60-89,4]	1,001	0,98-1,02	0,849
4 bb	69 [62-101]; p=0,897	0,99	0,98-1,02	0,849

Мы считаем, что полученные результаты свидетельствуют о нарушении циркуляторных механизмов адаптации новорожденных к гипоксии/асфиксии. Нами не получено достоверной связи между уровнем креатинина и ID полиморфизмом *ACE* гена или 4a / 4b полиморфизмом *eNOS* гена. Изучение ассоциаций между генетическими моделями генов *ACE*, *AGT2R1*, *eNOS* и уровнем ЛДГ в сыворотке крови у детей с ГИЭ, перенесших асфиксию, не выявило достоверных связей.

Следовательно, при простом логистическом регрессионном анализе достоверными факторами риска развития ГИЭ оказались слабость родовой деятельности, низкая оценка по шкале Апгар, применение ИВЛ и введение физиологического раствора при реанимации, применение ИВЛ во время лечения, длительная кислородная терапия, а также повышенные показатели уровня лейкоцитов, креатинина и ЛДГ. Поэтому именно эти прогностические

переменные подлежали множественному регрессионному анализу с целью определения алгоритма прогнозирования развития ГИЭ у детей с асфиксией.

### **3.1.3. Прогностическая модель развития гипоксически-ишемической энцефалопатии у доношенных детей при асфиксии**

Факторы риска, которые при простом логистическом регрессионном анализе ассоциировались с развитием ГИЭ, были проанализированы с помощью множественного логистического регрессионного анализа. Выяснилось, что с достоверностью  $p < 0,1$  с развитием ГИЭ ассоциировались: слабость родовой деятельности, оценка по шкале Апгар на 5 минуте, ИВЛ и введение физиологического раствора при первичной реанимации, уровень креатинина и ЛДГ на 1 сутки жизни (табл. 3.8), что свидетельствует о важности определенных факторов риска в развитии ГИЭ. При этом уровень лейкоцитов и проведения ИВЛ при лечении в ОРИТ не ассоциировались с развитием указанного состояния у доношенных новорожденных с асфиксией.

*Таблица 3.8*

#### **Ассоциации между развитием ГИЭ и прогностическими переменными при множественном логистическом регрессионном анализе**

Прогностические переменные	ДИ	95% ДИ	p
Слабость родовой деятельности, (да, нет)	40,63	1,12 -1465,31	0,043
Оценка по шкале Апгар на 5 мин., (баллы)	3,54	1,07-11,76	0,039
ИВЛ во время реанимации, (да, нет)	13,28	1,35-129,95	0,026
Введение физиологического раствора во время реанимации, (да, нет)	9,31	0,73-118,84	0,086
Лейкоциты в 1 сутки жизни, ( $10^9/л$ )	1,02	0,90-1,15	0,735
Креатинин, (мкмоль/л)	1,04	1,00-1,08	0,037
Лактатдегидрогеназа, (Од/л)	1,001	1,000-1,003	0,020
ИВЛ, (да, нет)	5,03	0,68-37,11	0,113

Для построения прогностических моделей и разработки диагностического алгоритма было применено пошаговый множественный логистический регрессионный анализ, куда включены достоверные факторы

риска, такие как слабость родовой деятельности (так - 1, нет - 0), оценка по шкале Апгар на 5 минуте (баллы), введение 0,9% NaCl при реанимации (да - 1, нет - 0), креатинин (мкмоль/л) и ЛДГ (ед/л) сыворотки крови.

Референтными значениями для переменных прогностических значений было избрано значение третьей квантили в общей когорте обследованных детей, в частности:

- для шкалы Апгар: 1 - оценка по шкале Апгар  $< 5$  баллов на 5 минуте, 0 - оценка по шкале Апгар  $\geq 5$  баллов на 5 минуте,
- для креатинина: 1 - уровень креатинина  $> 110$  мкмоль/л в 1 сутки жизни, 0 - уровень креатинина  $\leq 110$  мкмоль/л,
- для ЛДГ: 1 - уровень ЛДГ  $> 1700$  ед/л, 0 - уровень ЛДГ  $\leq 1700$  ед/л.

При пошаговом добавлении прогностических переменных выяснилось, что после включения в модель таких прогностических переменных, как слабость родовой деятельности, введение 0,9% NaCl при реанимации, уровня креатинина на  $> 110$  мкмоль/л и уровня лактатдегидрогеназы  $> 1700$  ед/л, дальнейшее добавление прогностических переменных: ИВЛ при реанимации и оценка по шкале Апгар на 5 минуте, не увеличивало операционные характеристики прогностической модели. Поэтому в диагностический алгоритм прогнозирования развития ГИЭ нами включены прогностические переменные, представленные в табл. 3.9.

Таблица 3.9

**Прогностическая модель развития гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных при асфиксии**

Прогностические переменные	$\beta$	m	ОШ (95% ДИ)	p
Слабость родовой деятельности	2,58	1,09	13,2 (1,56-112,4)	0,018
Введение 0,9% NaCl	2,21	1,01	9,16 (1,26-66,53)	0,028
Креатинин $> 110$ мкмоль/л	2,77	1,33	15,89 (1,18-214,6)	0,037
Лактатдегидрогеназа $> 1700$ ед/л	2,00	1,05	7,41 (0,95-57,75)	0,056
_cons	-2,73	0,89		0,002

Следующая приведенная формула (3.1) описывает риск развития ГИЭ в зависимости от 4 факторов: слабости родовой деятельности (1 – да, 0 – нет); введения 0,9 % NaCl при реанимации (1 – да, 0 – нет); уровень креатинина > 110 ммоль/л (1 – да, 0 – нет); уровень лактатдегидрогеназы > 1700 ед/л (1 – да, 0 – нет).

$$P = \alpha + B_1 (\text{слабость}) + B_2 (\text{введение 0,9 \% NaCl при реанимации}) + B_3 (\text{креатинин} > 110 \text{ ммоль/л}) + B_4 (\text{Лактатдегидрогеназа} > 1700 \text{ ед/л}). \quad (3.1)$$

После подставления цифровых значений в формулу риск развития ГИЭ выглядит следующим образом:

$$P = -2,73 + 2,58 (\text{слабость}) + 2,21 (\text{введение 0,9 \% NaCl при реанимации}) + 2,77 (\text{креатинин} > 110 \text{ ммоль/л}) + 2,00 (\text{лактатдегидрогеназа} > 1700 \text{ ед/л}). \quad (3.2)$$

### **3.2. Дисфункции миокарда у новорожденных при асфиксии и факторы риска, которые ассоциируются с ее развитием**

Вследствие прекращения кровотока и газообмена у ребенка возникает гипоксия тканей и клеток, которая реализуется недостаточностью многих органов [7], включая сердце. Литературные источники свидетельствуют, что повреждение миокарда, которое возникает в 28-65% [6] и даже в 73% [203] новорожденных с асфиксией, может иметь неблагоприятные отдаленные последствия.

Причины возможной миокардиальной дисфункции и дальнейшего снижения сердечного выброса у новорожденных при асфиксии является многофакторными, они включают низкую частоту сердечных сокращений, в результате асфиксии и ацидоза [119], пониженную сократительную способность миокарда вследствие недостаточной перфузии и ишемического поражения сердца. Считается, что основными факторами, обуславливающими сердечный выброс плода, являются частота сердечных сокращений [120-122], незрелость миокарда у плода [123], конечный диастолический объем желудочка, которые влияют на ударный объем желудочков и выброс левого желудочка, то есть механизм Франка-Старлинга



является основным фактором, который определяет сердечный выброс у плода [124, 125]. При тяжелой асфиксии сердечный выброс и ударный объем желудочков значительно снижаются [126, 127].

Новорожденные, которые подвергались действию гипоксии / асфиксии, имеют повышенный риск развития ишемического поражения сердца, вызванное снижением коронарной перфузии вследствие неадекватного сердечного выброса [128]. Подтверждением этого является повышение у новорожденных с асфиксией тропонина - маркера гибели миокардиоцитов и повреждения миокарда [129-131].

На сегодня ученые акцентируют внимание на возможной генетической восприимчивости новорожденных к развитию миокардиальной дисфункции, в частности есть работы, которые свидетельствуют о влиянии гена *eNOS* на нормальное развитие сердца [136, 137].

Таким образом, прогрессирующая асфиксия у новорожденных приводит к длительному ухудшению циркуляции, что, в свою очередь, вызывает миокардиальную дисфункцию, гиповолемический шок, недостаточность правого и левого желудочков, трикуспидальную регургитацию, гипотензию и в конечном итоге - остановку сердца.

### **3.2.1 Анамнестические, клинические, метаболические факторы риска развития дисфункции миокарда у новорожденных при асфиксии**

Из 72 детей с асфиксией, которые были включены в исследование, 13 (18,1%) имели диагностические критерии ДМ, значительно ниже частоты данной патологии, приведенных другими учеными [116, 203]. По нашему мнению, это обусловлено низким выявлением ДМ из-за отсутствия четких критериев для ее диагностики. Все дети, включенные в исследование, были разделены на две группы: в первую группу (n = 59) вошли дети, которые родились с оценкой по шкале Апгар менее 7 баллов на 5 минуте и которым не выставлены ДМ, во вторую группу (n = 13) - дети с аналогичным анамнезом, но с диагнозом ДМ, установленным кардиологом. Гестационный

возраст, масса при рождении и соотношение девочек и мальчиков достоверно не различались между двумя группами.

Изучение связи между интранатальными факторами риска и развитием ДМ у новорожденных показало, что обвитие плода пуповиной достоверно увеличивает шансы ребенка иметь указанную дисфункцию.

Острые кардиореспираторные проявления асфиксии требуют быстрого вмешательства в виде стимуляции, вентиляции, а в крайних случаях - сердечной реанимации [207]. Результаты наших исследований показали отсутствие достоверных различий между детьми обследованных групп по таким показателям как оценка по шкале Апгар на 1 и 5 минутах и частота применения мер первичной реанимации новорожденных.

Как свидетельствуют результаты исследования, представленные в табл. 3.10, 84,6% новорожденным с ДМ проводилась ИВЛ в результате дыхательных расстройств.

*Таблица 3.10*

**Частота развития синдромов, характеризующих поражение других органов и систем организма у детей в зависимости от наличия дисфункции миокарда, n (%)**

Дисфункции	Дети без ДМ (n=59)	Дети с ДМ (n=13)	P
Дыхательные расстройства	41 (69,5)	11 (84,6)	0,229
Артериальная гипотензия	23 (39)	8 (61,5)	0,137
Гипоксически-ишемическая энцефалопатия	22 (37,3)	6 (46,2)	0,553
Дисфункции ЖКТ	23 (39)	6 (46,2)	0,633
Острое поражение почек	15 (25,4)	5 (38,5)	0,265

Анализ частоты дисфункций других органов показал, что почти у половины детей с ДМ наблюдались артериальная гипотензия, гипоксически-ишемическая энцефалопатия и дисфункции желудочно-кишечного тракта, в 38,5% - острое поражение почек. При этом не получено достоверных

различий в частоте развития указанных состояний между детьми с ДМ и детьми без указанного состояния, то есть наличие у новорожденного ребенка с ДМ любого вышеуказанного синдрома не облегчает прогнозирование развития дисфункции миокарда у новорожденных с асфиксией. Из всего спектра исследуемых метаболических показателей при простом регрессионном логистическом анализе нами получено достоверная связь ( $p < 0,1$ ) между наличием у ребенка дисфункции миокарда и уровнем в сыворотке крови глюкозы и мочевины.

Таким образом, с развитием ДМ достоверно  $p < 0,1$  ассоциировались возраст матери меньше 20 лет, обвитие плода пуповиной, введение 4 % раствора гидрокарбонат натрия, повышение уровня палочкоядерных нейтрофилов, СРБ, глюкозы, мочевины, ЛДГ в сыворотке крови и уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче.

### **3.2.2. Генетические детерминанты риска развития дисфункции миокарда у новорожденных при асфиксии**

Изучение влияния I/D полиморфизма гена ACE, а/а полиморфизма гена *AGT2R1* и 4a/4b полиморфизма гена *eNOS* на развитие дисфункции миокарда (табл.3.11), не выявило достоверного влияния ни одной исследуемой генетической модели на развитие указанного состояния у новорожденных с асфиксией. Сочетание доминантных моделей ACE и *AGT2R1* генов, ACE и *eNOS*, а также *AGT2R1* и *eNOS* также не выявило достоверных ассоциаций с развитием ДМ у доношенных детей с асфиксией. Однако мы считаем, что необходимы дальнейшие исследования на большей когорте детей для окончательного выяснения роли генов PAC в возникновении дисфункции миокарда.

Учитывая то, что мы получили достоверную связь между развитием ДМ и  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче, мы исследовали средние значения данного показателя у детей, стратифицированных в зависимости от исследуемых генотипов генов PAC и наличие ассоциаций между ними. Поскольку нас интересовала только связь между уровнем  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче и

генотипами PAC, указанный этап исследования был проведен на всей когорте обследованных детей (n = 107).

Таблица 3.11

**Частота развития дисфункции миокарда у детей в зависимости от генетических моделей ACE, AGT2R1, eNOS генов, n (%)**

Генетические модели	Дети без ДМ	Дети с ДМ	p	ОШ (95% ДИ)	p
<b>ACE:</b>	n=58	n=13			
II vs. DD+ID	7 (12,1)	3 (23,0)	0,376	2,19 (0,48-9,92)	0,311
ID vs. II+DD	35 (60,3)	5 (38,5)	0,150	0,41 (0,12-1,41)	0,158
DD vs. II+DI	16 (27,6)	5 (38,5)	0,437	1,64 (0,47-5,76)	0,440
<b>AGT2R1:</b>	n=58	n=13			
AA vs. CA+AA	40 (69,0)	9 (69,2)	0,985	1,01 (0,27-3,72)	0,985
AC vs. AA+CC	14 (24,1)	4 (30,8)	0,726	1,39 (0,37-5,24)	0,620
CC vs. AA+AC	4 (6,9)	0	0,437	-	-
AC+CC vs AA	18 (31,0)	4 (30,8)	0,890	1,09 (0,29-4,01)	0,890
<b>eNOS:</b>	n=58	n=12			
4aa vs. 4ab+4bb	3 (5,2)	1 (8,3)	0,537	1,66 (0,15-17,55)	0,671
4ab vs. 4+aa4bb	19 (32,8)	5 (41,7)	0,636	1,35 (0,38-4,82)	0,637
4bb vs. 4aa+4ab	36 (62,1)	6 (50,0)	0,437	0,611 (0,17-2,13)	0,440

Как свидетельствуют результаты исследования, у новорожденных с доминантной моделью AC + CC vs. AA AGT2R1 гена уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче был достоверно выше новорожденных детей с AA генотипом указанного гена. Также уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче был достоверно выше у новорожденных с 4ab + 4AA vs. 4bb полиморфизмом eNOS гена, чем у детей с bb генотипом. Таким образом, доминантная модель (AC + CC) гена AGT2R1 и доминантная модель (4ab + 4AA) гена eNOS достоверно связаны с уровнем  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче на 1 сутки жизни у новорожденных с асфиксией, при этом сочетание указанных генетических вариантов у определенного ребенка увеличивает его шансы иметь повышенный уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче,

который, в свою очередь, ассоциируется с ДМ. Наши выводы о роли указанных генов согласуются с литературными данными, проведенными у взрослых. В частности, в исследованиях, выполненных с применением антагонистов *AT2R1*, показано, что блокада рецептора I типа может улучшать функцию эндотелия сосудов, вероятным механизмом при этом может быть предотвращение инактивации NO супероксид анионами за счет увеличения активности эндотелиальной супероксид дисмутазы [211, 212]. Учитывая это, вполне логичным является увеличение уровня  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче у новорожденных с генетическими моделями *AGT2R1 AC + CC* и *eNOS 4ab + 4AA*, в которых функция указанных генов заблокирована. Но у новорожденных с асфиксией уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче достоверно ассоциируется с ДМ, косвенно подчеркивает связь *AGT2R1 AC + CC* и *eNOS 4aa + 4ab* генотипов с развитием указанного состояния. Таким образом, вероятно, генетически детерминированное нарушение метаболизма NO будет способствовать развитию эндотелиальной дисфункции и подобно патофизиологическим механизмам, которые имеют место при инфаркте миокарда у взрослых, может вызвать нарушение коронарного кровотока, что, в свою очередь, наряду с гипоксией приводит к поражению сердца.

Для определения связи между уровнем глюкозы в сыворотке крови и полиморфизмом генов *PAS*, было выделено новую дихотомическую прогностическую переменную - уровень глюкозы крови меньше 3,3 ммоль/л, так как этот уровень является третьей квартилью уровня глюкозы в общей когорте обследованных детей. Исследованием выявлена связь на грани статистической значимости ( $p < 0,1$ ) между наличием у ребенка глюкозы меньше 3,3 ммоль/л и генетической моделью *AC + CC vs. AA AGT2R1*.

Нами не выявлено достоверных ассоциаций между исследуемыми генетическими моделями и снижением глюкозы в сыворотке крови менее 3,3 ммоль/л.

Таким образом, генетические модели (*AC + CC vs. AA AGT2R1* и (*4aa + 4ab vs. 4bb*) *eNOS* генов, а также их сочетание, достоверно связаны с

уровнем  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче в 1 сутки жизни у новорожденных при асфиксии.

Клиническое внимание медицинского персонала во время реанимации новорожденных при асфиксии в значительной степени сфокусировано на немедленных изменениях частоты сердечных сокращений и в меньшей степени на системном артериальном давлении [213-215]. Артериальное давление у новорожденного ребенка зависит от функции миокарда и почек, формируют сосудистый тонус, поэтому мы сочли целесообразным проанализировать влияние генов PАС на развитие артериальной гипотензии у новорожденных с асфиксией. И хотя гены PАС принимают весомое участие в поддержании нормального АД у взрослых, в нашем исследовании среди новорожденных с асфиксией ни одна из генетических моделей *ACE*, *AGT2R1*, *eNOS* генов не ассоциировалась с развитием АГ.

Как свидетельствуют данные, распределение детей в группах стратифицированных согласно сочетанию полиморфных генов PАС, было почти одинаковым. И так, по нашим предварительным данным, полиморфизм генов PАС не способствует развитию нарушений гемодинамики у новорожденных с асфиксией.

### **3.2.3. Прогностическая модель развития дисфункции миокарда у новорожденных при асфиксии**

Для проведения множественного логистического регрессионного анализа и построения прогностической модели развития ДМ у новорожденных с асфиксией были определены референтные значения для переменных прогностических переменных, которые основывались на показателях третьей квантили, в частности:

- для глюкозы: 1 - уровень глюкозы  $< 3,3$  ммоль/л, 0 - уровень глюкозы  $\geq 3,3$  ммоль/л,
- для  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  : 1 - уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче  $> 21$  ммоль/л, 0 - уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче  $\leq 21$  ммоль / л,

- для мочевины: 1 - уровень мочевины  $>7,0$  ммоль/л, 0 - уровень мочевины  $\leq 7,0$  ммоль / л.

Кроме выше указанных возможных прогностических переменных для дальнейшего множественного регрессионного анализа были включены также переменные, которые при простом анализе имели  $p \leq 0,1$  - постоянные переменные: уровень лактатдегидрогеназы и уровень  $pCO_2$ . Таким образом, для разработки прогностической модели независимой переменной было определено наличие у ребенка ДМ, а зависимыми - вышеуказанные дихотомические и постоянные переменные. Выяснилось, что при проведении множественного логистического регрессионного анализа достоверными факторами риска ( $<0,1$ ) оказались: уровень глюкозы в сыворотке крови менее чем 3,3 ммоль / л, уровень мочевины в сыворотке крови  $\geq 7,0$  ммоль / л и уровень  $NO_2^- + NO_3^-$  в моче меньше 21 мкмоль / л.

По нашим данным, уровень общих воспалительных биомаркеров, а также ЛДГ и  $pCO_2$  не являются надежными предикторами развития у ребенка ДМ. Отсутствие связи с  $pCO_2$  мы объясняем тем, что указанный показатель определялся после проведения мероприятий первичной реанимации новорожденных, так гипокапния, которая определялась у детей обеих групп, могла быть обусловлена гипервентиляцией при проведении ИВЛ сразу после рождения.

Несмотря на то, что глюкоза является облигатным энергетическим субстратом для головного мозга и одним из основных энергетических субстратов для сердца ее связь с развитием ДМ является обоснованным [216]. При асфиксии гипогликемия у новорожденных может вызываться перинатальным стрессовым гиперинсулинизмом [217].

При снижении концентрации глюкозы ниже 4,9 ммоль/л, сначала происходит угнетение секреции инсулина [218], при снижении концентрации глюкозы в пределы 3,6-3,9 ммоль/л - происходит увеличение секреции глюкагона и активация симпатoadреналовой системы, что увеличивает высвобождение глюкозы из депо гликогена в печени. При снижении

концентрации глюкозы меньше 3,6 ммоль/л увеличивается концентрация кортизола и гормона роста в плазме, которые важны для поддержания глюкозы при длительном голодании [219].

Метаболическая защита происходит за счет активации глюконеогенеза, при котором печень снабжает мозг, миокард и другие ткани глюкозой, которую он синтезирует из запасов гликогена, главным образом - с глюконеогенных аминокислот, таких как аланин и восстановленный лактат, но при асфиксии эти реакции могут быть подавлены в результате гипоксического поражения печени. При более длительном голодании и дальнейшем уменьшении секреции инсулина в мозге и в нескольких гликолитических тканях, таких как эритроциты, снижается утилизация глюкозы. Из жировой ткани путем липолиза высвобождаются глицерин, глюконеогенное вещество и свободные жирные кислоты, которые могут заменить глюкозу как энергетический субстрат в скелетных мышцах и миокарде, но не в головном мозге.

Несмотря на то, что тяжелая и длительная гипогликемия может привести к необратимому повреждению не только нейронов, но и кардиоцитов [220-222], постоянный мониторинг уровня глюкозы и соблюдения ее на достаточном уровне у детей с асфиксией может быть жизненно важным мероприятием. Поэтому, с целью профилактики таких повреждений целесообразным является определение глюкозы всем детям, которым проводилась даже кратковременная ИВЛ. Также нужно придерживаться современных рекомендаций по уровню глюкозы у новорожденных [222]. В частности, для новорожденных высокого риска без подозрения на врожденные пороки рекомендуется поддерживать концентрацию глюкозы больше 2,8 ммоль/л для детей в возрасте меньше 48 часов жизни и больше 3,3 ммоль /л для детей старше 48 часов жизни.

Что касается связи оксида азота с развитием ДМ, то известно несколько механизмов защитного воздействия NO при асфиксии: (а) обеспечение кровоснабжения жизненно важных органов новорожденного, включая



сердце, (б) регуляция сосудистого тонуса за счет нейромедиаторных функций  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  [223], (в) регуляция метаболизма глюкозы за счет активации гликогенолиза и торможения процессов глюконеогенеза [224], и (г) обеспечение постнатальной адаптации новорожденного после перенесенной асфиксии [225, 226]. Таким образом, у новорожденных при ДМ нарушается несколько метаболических путей защиты органов и систем организма от гипоксии/ишемии, поэтому вполне логично, что именно генетически детерминированный низкий уровень глюкозы и  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  увеличивают шансы ребенка иметь ДМ.

Для построения прогностической модели развития ДМ применен пошаговый множественный логистический регрессионный анализ, при котором из базовой модели, включающей достоверные факторы риска, полученные при простом регрессионном анализе, исключались прогностические переменные с наибольшим показателем  $p$ . Таким образом, в окончательной прогностической модели, где все факторы риска являются достоверными, остались такие переменные, как уровень глюкозы меньше чем 3,3 ммоль / л, уровень мочевины в сыворотке крови  $\geq 7,0$  ммоль / л и уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче менее 21 мкмоль/ л (табл. 3.12).

Таблица 3.12

**Ассоциации между развитием дисфункции миокарда у ребенка с асфиксией и лабораторными показателями**

Прогностические переменные	$\beta$	m	p	ОШ	95% ДИ	p
Глюкоза < 3,3ммоль/л	2,45	1,28	0,055	11,6	0,98-142,3	0,055
$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- < 21$ мкмоль/л	2,72	0,98	0,006	15,21	2,19-105,65	0,006
Мочевина > 7,0 ммоль/л	3,06	1,48	0,040	21,3	1,15-385,1	0,040
cons	-4,99	1,57	0,001			

Следующая приведенная формула (3.3) описывает риск развития ДМ в зависимости от 3 факторов: глюкоза < 3,3ммоль/л (1-да, 0-нет);  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- < 21$  мкмоль/л (1-да, 0-нет); мочевины > 7,0 ммоль/л (1-да, 0-нет).

$$P = \alpha + B_1 (\text{глюкоза} < 3,3\text{ммоль/л}) + B_2 (\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- < 21 \text{ мкмоль/л}) + \quad (3.3)$$

$V_3$  (мочевина  $> 7,0$  ммоль/л)

После внесения цифровых значений в формулу (3.3) риск развития ДМ выглядит таким образом:

$$P = -4,99 + 2,45 (\text{глюкоза} < 3,3 \text{ ммоль/л}) + 2,72 (\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- < 21 \text{ мкмоль/л}) + 3,06 (\text{мочевина} > 7,0 \text{ ммоль/л}) \quad (3.4)$$

Анализ операционных характеристик нашей прогностической модели показал, что с увеличением факторов риска повышаются ее характеристики (табл.3.13)

Таблица 3.13

**Операционные характеристики прогностических моделей развития дисфункции миокарда, которые включают разное количество факторов риска**

Операционные характеристики	Количество факторов риска у ребенка:	
	2	3
Чувствительность	63,6%	81,8%
Специфичность	86,1%	82,1%
Позитивное предиктивное значение	53,9%	56,3%
Негативное предиктивное значение	90,2%	94,1%
Площадь под ROC кривой	0,8118	0,8368

Таким образом, ранние клинические проявления ДМ являются неспецифическими и субъективными. Уровень глюкозы, мочевины в сыворотке крови и уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче более всего могут быть полезными маркерами для подозрения и прогнозирования развития неонатального повреждения миокарда при асфиксии и могут быть использованы для определения показаний необходимости дальнейшей специфической диагностики и соответствующего лечения новорожденных с асфиксией. Глюкоза является важным энергетическим веществом не только для головного мозга, но и для миокарда, поэтому нужно определить ее концентрацию у всех новорожденных, которым проводилась ИВЛ во время реанимации. Целевыми значениями глюкозы в сыворотке крови детей является поддержание ее концентрации на уровне более чем 3,3 ммоль/л.

### Выводы к разделу 3

1. Основными клиническими проявлениями ГИЭ у новорожденных с асфиксией были угнетение (92,9% детей), судороги (82,1% детей), повышенная возбудимость (39,3% детей) и мозговая кома (14,3% детей) с одновременным сочетанием ГИЭ с ДР (89,3% детей), артериальной гипотензией (53,6% детей), дисфункциями ЖКТ (53,6% детей) и острым повреждением почек (32,1% детей).

2. С развитием ГИЭ при множественном логистическом регрессионном анализе достоверно ассоциируются слабость родовой деятельности, оценка по шкале Апгар на 5 минуте, введение 0,9% раствора натрия хлорида, уровень креатинина и ЛДГ в сыворотке крови на 1 сутки жизни.

3. Уровень креатинина, как маркера ацидемии плода, у новорожденных с асфиксией на 1 сутки жизни достоверно ассоциируется с наличием С аллели гена *AGT2R1* (ОШ 1,02, 95% ДИ 1,00-1,03,  $p = 0,018$ ), что свидетельствует о генетически обусловленной восприимчивости этих детей до ante/инранатального гипоксического / асфиксического события.

4. Алгоритм прогнозирования развития ГИЭ, включающий слабость родовой деятельности, введение физиологического раствора при реанимации, уровень креатинина  $> 110$  ммоль/л и уровень лактатдегидрогеназы  $> 1700$  ед/л, имеет высокие операционные характеристики: чувствительность 61,1%, специфичность 96,0%, положительное предиктивное значение 91,7%, отрицательное предиктивное значение 77,4% и площадь под ROC кривой - 0,8711, то есть вероятность того, что ребенок со всеми имеющимися выше указанными факторами риска, будет иметь ГИЭ составляет 91,7% .

5. Среднее значение ЧСС, систолического АД, среднего АД, медианного показателя диастолического АД, а также частота тахикардии, брадикардии, олигурии и артериальной гипотензии были почти одинаковыми в группах детей с ДМ и без указанного состояния, при этом в 84,6% новорожденных с ДМ проводилась ИВЛ в результате дыхательных расстройств, а у почти

половины детей с ДМ наблюдались АГ, ГИЕ и дисфункции ЖКТ, в 38,46% - ОПП.

6. С развитием ДМ при простом регрессионном логистическом анализе с достоверностью  $p < 0,1$  ассоциировались возраст матери менее 20 лет, обвитие плода пуповиной, введение 4% раствора гидрокарбоната натрия, повышение уровня палочкоядерных нейтрофилов, СРБ, глюкозы, мочевины, ЛДГ в сыворотке крови и уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче, однако при множественном - только уровень глюкозы менее 3,3 ммоль/л, уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче меньше 21 ммоль/л и уровень мочевины больше 7,0 ммоль/л.

7. Генетические модели  $AC + CC$  vs.  $AA$  *AGT2R1* и  $4aa + 4ab$  vs.  $4bb$  *eNOS* генов достоверно связаны с уровнем  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче в 1 сутки жизни у новорожденных с асфиксией, при этом сочетание указанных генетических моделей у определенного ребенка увеличивает ее шансы иметь повышенный уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче, что свидетельствует о влиянии сосудистых механизмов на развитие ДМ, скорее всего, за счет ухудшения коронарного кровотока.

8. Прогностическая модель развития ДМ, включающая уровень глюкозы менее 3,3 ммоль/л, уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче менее 21 ммоль/л и уровень мочевины больше 7,0 ммоль/л, имеет высокие операционные характеристики, в частности чувствительность 81,8%, специфичность 82,1%, положительное предиктивное значение - 56,3% и отрицательное предиктивное значение - 94,1% и площадь под ROC кривой - 0,8368.

## РАЗДЕЛ 4

### КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ РАЗВИТИЯ ДИСФУНКЦИЙ НЕВИТАЛЬНЫХ ОРГАНОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ АСФИКСИИ

Одной из наиболее значимых сердечно-сосудистых реакций на асфиксию является перераспределение сердечного выброса. Гипоксия отводит кровь, частично из-за примитивного «дайвинг-рефлекс», от менее жизненно важных органов, таких как печень, почки и кишечник, чтобы поддерживать доставку кислорода к витальным органам, таким как мозг, сердце и надпочечники [56]. В органах лишенных кровотока происходит местная вазоконстрикция и перераспределение кровотока, в результате чего снижается доставка кислорода к тканям и клеткам невитальных органов.

#### **4.1. Острое повреждение почек у доношенных новорожденных при асфиксии и факторы риска, которые ассоциируются с его развитием**

Острое повреждение почек (ОПП) - это комплексное нарушение, клинические проявления которого варьируют от легкой дисфункции до анурической формы почечной недостаточности [146]. Критически больные новорожденные имеют больший риск развития указанного состояния, так как они обычно подвергаются воздействию нефротоксических лекарств и имеют частые инфекции, которые приводят к полиорганной недостаточности, одним из проявлений которой является ОПП [228]. При этом ученые сообщают о связи развития указанного состояния с тяжелой асфиксией [229-232] и полиорганной недостаточностью [184, 228] и неблагоприятными отдаленными последствиями [233-235]. В исследовании Sarkar S. показано, что 50% детей с тяжелой асфиксией имели повышенный уровень креатинина, а 18-39% детей - диурез менее 0,5 мл/ кг/ ч в течение более 24 часов [139]. В другом исследовании показано, что 67% детей имели дисфункции почек, и только 19% младенцев - олигурию, а 5% детей - анурию [140]. В исследовании китайских ученых показано, что у 20% младенцев выявлено олигурии с повышением уровня азота мочевины и креатинина в крови [107].

В некоторых исследованиях ОПП диагностируют при уровнях креатинина более 1,5 мг/дл и уменьшении диуреза ( $<1$  мл/кг/ч), но олигурия констатируют только в 50% детей с острой почечной недостаточностью [144]. Младенцы часто могут поддерживать диурез более 1 мл/кг/ч и одновременно иметь нарушения функции почек [142]. Некоторые младенцы могут иметь начальную олигурию, возникающую при почечной недостаточности вследствие острого тубулярного некроза, даже при высоком сердечном выбросе. Литературные источники свидетельствуют, что значительное поражение почек может быть без изменения уровня креатинина, так как его уровень в сыворотке крови начинает увеличиваться при потере от 25% до 50% почек [146]. Ученые отмечают, что степень повреждения почек коррелирует с клинической тяжестью асфиксии и аномальными результатами на МРТ головного мозга [147, 148]. Электролитные нарушения проявляются в более чем 50% детей, при этом гипонатриемия, гипокалиемия и гипокальциемия являются наиболее существенными [139, 149].

Достаточное количество работ посвящено изучению биомаркеров развития ОПП. Так, фракционная экскреция натрия более 3% является умеренно специфическим критерием развития ОПП через 48 часов [142].

#### **4.1.1. Анамнестические, клинические, метаболические и генетические факторы риска развития острого повреждения почек у новорожденных при асфиксии**

Нами было выявлено, что у 14 (19,4%) детей, родившихся с оценкой по шкале Апгар  $\leq 6$  баллов, уровень креатинина в пределах 90-130 ммоль/л, у 15 (20,8%) детей - выше 130 ммоль/л на фоне нормального диуреза, и у 5 (6,9%) детей - выше 130 ммоль/л на фоне олигурии. Таким образом, у 20 (27,8%) детей с асфиксией уровень креатинина был выше 130 ммоль / л, что является критерием определения ОПП. Следует отметить, что результаты наших исследований отличаются от данных других авторов. Так, Aggarwal и др. [147] показали, что ОПП зафиксировано у 56% детей, которые родились с

оценкой по шкале Апгар  $\leq 6$  баллов на 5 мин., а в исследовании B.D. Gupta-47% детей [150].

В нашем исследовании среди детей с тяжелой асфиксией частота развития ОПП была выше и составляла уже 43,2% (n=16), однако иностранные авторы указывают на несколько более высокие цифры частоты данной патологии, например, R.J. Portman в своей работе сообщает про 66% частоту ОПП среди детей с тяжелой асфиксией [236].

Следует отметить, что лишь 6,9% обследованных нами детей имели олигурию при ОПП. Все вышеуказанные исследования также сообщают о значительной частоте (более 50%) детей с ОПП, которые имели нормальный почасовой диурез [147, 237], что подчеркивает сверхнизкую чувствительность этого симптома в предвидении развития указанного патологического состояния среди новорожденных. Анализ младенцев сразу после рождения показал, что у детей с асфиксией без ОПП медианный показатель оценки по шкале Апгар как на первой, так и на пятой минутах был достоверно выше, чем у детей с острым поражением почек (табл.4.1).

Таблица 4.1

**Оценка состояния новорожденных по шкале Апгар и объем реанимационных мероприятий в зависимости от наличия ОПП**

Показатели	Дети без ОПП n=52	Дети с ОПП n=20	p	ОШ 95% ДИ	p
1	2	3	4	5	6
Оценка по шкале Апгар, (баллы) [Me(Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ):					
1 минута	4 (3-5)	3 (2-3)	0,0028	0,58 (0,39-0,86)	0,007
5 минута	6 (6-6)	4 (3-5)	<0,001	0,37 (0,22-0,62)	<0,001
Апгар <5 баллов на 5 мин., n (%)	8 (15,4)	14 (70,0)	<0,001	12,83 (3,79-43,36)	<0,001
Объем реанимационных мероприятий, n (%):					
ИВЛ	37 (71,2)	19 (95,0)	0,031	7,7 (0,94-62,8)	0,057

Продолжение табл. 4.1

1	2	3	4	5	6
массаж сердца	6 (11,5)	9 (45,0)	0,003	6,27 (1,84-21,35)	0,003
адреналин	3 (5,8)	4 (20,0)	0,088	4,08 (0,82-20,22)	0,085
0,9 %раствор NaCl	15 (28,9)	9 (45,0)	0,193	2,02 (0,69-5,85)	0,197
4,0 % р-р NaHCO <sub>3</sub>	3 (5,8)	6 (30,0)	0,011	7,0 (1,55-31,62)	0,011

При этом шансы развития ОПП у ребенка, имеющего менее 5 баллов на 5 минуте по шкале Апгар, увеличиваются в 12,8 раза. Новорожденным с ОПП при первичной реанимации достоверно чаще проводилась искусственная вентиляция легких (95% против 71,2%,  $p = 0,029$ ), массаж сердца (45,0% против 11,5%,  $p = 0,003$ ) и вводился 4% раствор гидрокарбоната натрия (30,0% против 5,8%,  $p = 0,011$ ). При этом применение ИВЛ при реанимации увеличивало шансы ребенка иметь ОПП в 7,7 раза, массаж сердца - в 6,27 раза, а введение 4% раствора гидрокарбоната натрия - в 7,0 раз.

Так как функция почек в значительной степени зависит от состояния системной гемодинамики у новорожденного, мы проанализировали основные гемодинамические показатели у детей обследованных групп. Артериальное давление в первые сутки жизни был почти одинаковым среди детей данных групп и не ассоциировался с развитием ОПП, среднее значение почасового диуреза было почти аналогичным и первые, и вторые сутки жизни (табл.4.2).

Таблица 4.2

#### Основные гемодинамические показатели у детей в первые 2 суток жизни

Гемодинамические показатели	Дети без ОПП, n=52	Дети с ОПП, n=20	p	ОШ95% ДИ	p
1	2	3	4	5	6
<i>1 сутки, (M±m)</i>					
ЧСС уд. в мин.	140,9±1,77	141,8±3,94	0,823	1,00 (0,96-1,04)	0,821
САД, мм рт.ст.	59,7±1,17	60,3±2,47	0,799	1,00 (0,95-1,06)	0,797
ДАД, мм рт.ст.	30,6±0,88	34,4±2,49	0,076	1,05 (0,99-1,13)	0,087



Продолжение табл. 4.2.

1	2	3	4	5	6
Среднее АД, мм рт.ст.	39,8±1,06	40,3±2,35	0,821	1,00 (0,95-1,07)	0,818
Диурез, мл/кг/ч	1,48±0,14	1,23±0,23	0,375	0,76 (0,42-1,37)	0,371
2 сутки, (M±m)					
ЧСС уд. в мин.	138,0±1,72	137,0±2,91	0,775	0,99 (0,95-1,4)	0,771
САД, мм рт.ст.	63,3±0,95	64,4±1,57	0,544	1,02 (0,95-1,10)	0,538
ДАД, мм рт.ст.	32,9±1,1	34,9±1,71	0,338	1,03 (0,96-1,11)	0,335
Среднее АД, мм рт.ст.	42,7±0,91	44,6±2,06	0,341	1,04 (0,96-1,11)	0,338
Диурез, мл/кг/час	2,8±0,16	2,7±0,30	0,931	0,98 (0,58-1,64)	0,930

Таким образом, основные стандартные показатели, применяемые для оценки гемодинамики сразу после рождения, не ассоциировались с развитием ОПП у доношенных детей с асфиксией.

Течение ОПП у новорожденных с асфиксией происходило на фоне развития ДР, в т.ч. в результате меконияльной аспирации, и легочной гипертензии, а также ДМ и ГИЭ. При этом синдром меконияльной аспирации синдром дыхательных расстройств, требовали применения ИВЛ, почти в 4,7 раза увеличивали шансы ребенка иметь ОПП, однако наличие у ребенка дисфункции миокарда, гипоксически-ишемической энцефалопатии, не ассоциировались с развитием указанного состояния (табл.4.3), что свидетельствует о наличии дополнительных механизмов восприимчивости ребенка к развитию именно ОПП.

Связь ОПП с дыхательными расстройствами, возможно, объясняется отеком легких вследствие объемной перегрузки, а также имеющимися доказательствами на животных ишемических моделях индукции воспалительного процесса при ОПП, что подтверждается значительным повышением уровня нейтрофилов, ФНО- $\alpha$ , интерлейкинов, свободных радикалов, эндотелиальных факторов роста и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора [238-240].

Таблица 4.3

**Ассоциации между развитием острого повреждения почек и синдромами, которые сочетаются с асфиксией, n (%)**

Дисфункции	Дети без ОПП n=52	Дети с ОПП n=20	p	ОШ (95% ДИ)	p
Дыхательные расстройства	34 (65,4)	18 (90,0)	0,037	4, 76 (0,99-22,87)	0,051
Синдром мекониальной аспирации	7 (13,5)	7 (35,0)	0,045	3,46 (1,02-11,68)	0,045
Легочная гипертензия	3 (5,8)	4 (20,0)	0,088	4,08 (0,82-20,22)	0,085
Дисфункция миокарда	8 (15,4)	5 (25,0)	0,265	1,83 (0,52-6,47)	0,346
Гипоксически-ишемическая энцефалопатия	19 (36,5)	10 (50,0)	0,363	1,64 (0,56-4,82)	0,365
Дисфункции ЖКТ	20 (38,5)	9 (45,0)	0,198	1,91 (0,71-5,18)	0,198

Кроме того, было признано, что пациенты с ОПП в критическом состоянии имеют не только печальный прогноз относительно смертности (смертность 80%), но и проблемы с отлучением от механической вентиляции [240, 241]. В частности, новорожденным с асфиксией и с острым поражением почек ИВЛ проводится дольше, чем у детей без заболевания почек [243]. Следует отметить, что нами не получено достоверных ассоциаций между развитием ОПП и гипоксически-ишемической энцефалопатией, хотя в рандомизированном исследовании, проведенном E. Hadzimiratovic, указывается о наличии такой связи [244].

Следующим шагом нашего исследования стал анализ ассоциаций между ОПП и общими воспалительными и метаболическими биомаркерами, в т.ч. электролитными. При простом логистическом регрессионном анализе выявлена связь на грани 0,1 между уровнем лейкоцитов в 1 сутки жизни и развитием ОПП, а также отсутствие такой связи с другими общими воспалительными биомаркерами (табл.4.4).

Таблица 4.4

**Ассоциации между острым повреждением почек и общими  
воспалительными биомаркерами у новорожденных при асфиксии**

Прогностические переменные, M±m	Дети без ОПП n=52	Дети с ОПП n=20	p	ОШ	95% ДИ	p
Лейкоциты ( $10^9/л$ ),	16,2±1,02	21,71±2,74	0,07	1,06	1,00-1,13	0,038
Палочкоядерные лейкоциты (%),	13,2±0,62	15,4±1,76	0,245	1,07	0,97-1,17	0,149
IL <sub>1</sub> (пг/мл),	1,15±0,24	0,76±0,09	0,133	0,57	0,21-1,56	0,277
IL <sub>6</sub> (пг/мл),	30,9±3,21	30,4±3,86	0,923	0,99	0,96-1,04	0,925
СРБ, (мг/л),	6,28±0,29	12,86±5,92	0,309	1,26	0,78-2,04	0,348
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (мкмоль/л),	26,6±2,27	26,1±4,17	0,918	0,99	0,96-1,04	0,909

Метаболическим маркером, который достоверно связан с развитием ОПП, оказался уровень мочевины в сыворотке крови, но следует отметить, что ее концентрация как у детей с ОПП, так и у детей без ОПП была в пределах возрастной нормы. Однако уровень мочевины в сыворотке крови больше 6,0 ммоль/л достоверно ассоциировался с развитием ОПП.

Что касается газов крови и электролитов, то нами не получено достоверных различий в средних значениях основных электролитов (калий, натрий, кальций) и кислотно-щелочного состояния крови (рН, рСО<sub>2</sub>).

И хотя мы не получили достоверных различий в средних значениях электролитов сыворотки крови, другие ученые указывают на необходимость тщательного контроля баланса жидкости, уровня электролитов и массы тела с целью предотвращения развития гиповолемии или перегрузки жидкостью [138], ведь последнее ассоциируется с повышенной смертностью [245]. Несмотря на то, что дисфункция почек у обследованных детей возникала и при нормальном диурезе, считаем целесообразным избегать применения нефротоксических препаратов у новорожденных детей с асфиксией, что совпадает с мнением других ученых [246,247].

Использование диуретиков при ОПП не имело эффекта и даже может быть вредным [138]. Несколько работ [248, 249], в т.ч. один из последних мета-анализов, демонстрируют уменьшение проявлений ОПП при профилактическом введении теofilлина у новорожденных с асфиксией [250].

Известно, что при снижении перфузионного давления в почках, например, в результате дегидратации или механического препятствия в почечном артериальном кровотоке, для сохранения почечной гемодинамики происходит высвобождение ренина, ангиотензина, то есть веществ, которые повышают системное артериальное давление [251, 252]. Поэтому мы предположили, что, возможно, полиморфизм генов ренин-ангиотензиновой системы, а также гена *eNOS*, влияет на развитие ОПП у новорожденных с асфиксией. Как свидетельствуют результаты исследования, представленные в табл. 4.5, ни одна из генетических моделей *ACE* и *eNOS* генов не связана с развитием ОПП, однако генетическая модель *CC + CA vs. AA AGT2R1* гена достоверно ассоциируется с увеличением шансов ребенка иметь указанный синдром.

Таблица 4.5

**Ассоциации между развитием ОПП и генетическими моделями *ACE*, *AGT2R1*, *eNOS* генов у новорожденных при асфиксии**

Генетические модели	Дети без ОПП n=52	Дети с ОПП n=20	p	ОШ (95% ДИ)	p
<b><i>ACE</i>:</b>	n=51	n=20			
II vs. ID+ DD	8 (15,7)	2 (10,0)	0,714	1,67 (0,29-17,58)	0,535
ID vs. DD+II	28 (54,9)	12 (60,0)	0,793	0,81 (0,24-2,61)	0,693
DD vs. II+ ID	15 (29,4)	6 (30,0)	0,961	0,94 (0,27-3,59)	0,923
<b><i>AGT2R1</i>:</b>	n=51	n=20			
AA vs. AC+CC	38 (74,5)	10 (50,0)	-	-	-
AC+CC vs. AA	13 (25,5)	10 (50,0)	0,047	2,92 (0,86-9,80)	0,047
<b><i>eNOS</i>:</b>	n=50	n=20			
bb vs. aa+ab	32 (64,0)	10 (50,0)	-	-	-
aa+ab vs. bb	18 (36,0)	10 (50,0)	0,280	1,77 (0,62-5,08)	0,283

Таким образом, достоверными факторами риска при простом логистическом регрессионном анализе выявились: повторные роды, оценка по шкале Апгар на 5 мин.  $\leq 5$  баллов; ИВЛ, массаж сердца та введение 4 % раствора  $\text{NaHCO}_3$  во время реанимации, синдром мекониальной аспирации, уровень лейкоцитов, мочевины сыворотки крови  $> 6,0$  ммоль/л, а также АС+СС генотип *AGT2R1* гена.

#### **4.1.2. Прогностическая модель развития ОПП у новорожденных при асфиксии**

Для определения клинико-метаболических и генетических детерминант развития ОПП был проведенный множественный логистический регрессионный анализ, куда включены все прогностические переменные с уровнем достоверности  $< 0,1$  при простом логистической регрессионном анализе, в частности дихотомические переменные: массаж во время реанимации (да - 1, 0 - нет), дыхательные расстройства, требующие ИВЛ (да - 1, 0 - нет), мекониальная аспирация (да - 1, 0 - нет), АС + СС генотип *AGT2R1* (да - 1, 0 - нет), а также постоянные переменные: шкала Апгар на 1 и 5 минутах и уровень лейкоцитов.

При пошаговом множественном логистическом регрессионном анализе выяснилось, что оценка по шкале Апгар на 1 минуте жизни, массаж сердца во время реанимации, наличие у ребенка дыхательных расстройств, требующих искусственной вентиляции легких, не ассоциировались с развитием ОПП. Однако оценка по шкале Апгар на 5 минуте, мекониальная аспирация и АС или СС генотипы *AGT2R1* гена остались достоверными факторами риска развития указанной дисфункции (табл.4.6).

На сегодня известно, что ренин-ангиотензиновая система участвует не только в патогенезе заболеваний мочевыводящей системы, но и в ее морфо-функциональном развитии, в частности, полиморфизм гена *AGT2R1*, который является посредником формирования перистальтических механизмов мочеточника, способствует развитию врожденных аномалий почек и мочевыводящих путей [253]. Учитывая это, вероятно, дети с А/С

полиморфизмом *AGT2R1* гена могут быть более восприимчивыми к развитию ОПП.

Таблица 4.6

**Ассоциации между развитием ОПП и факторами риска  
при множественном логистическом регрессионном анализе**

Прогностические переменные	ОШ 95% ДИ	p
Апгар 1 (баллы)	1,21 (0,57-2,58)	0,621
Апгар 5 (баллы)	0,30 (0,13-0,71)	0,006
Массаж при реанимации (1 -да, 0 - нет)	1, 18 (0,15-9,06)	0,874
Дыхательные расстройства (1 - да, 0 - нет)	2,38 (0,30-18,89)	0,410
Мекониальная аспирация, (1 - да, 0 - нет)	6,0 (0,99-36,62)	0,051
Уровень лейкоцитов ( $10^9/л$ )	1,06 (0,99-1,14)	0,090
АС+СС <i>AGT2R1</i> генотип (1 - да, 0 - нет)	4,7 (1,02-22,22)	0,039

Для конечной прогностической модели развития ОПП у новорожденных с асфиксией было выбраны такие прогностические переменные: оценка по шкале Апгар  $\leq$  на 5 минуте (1 - да, 0 - нет), мекониальная аспирация (1 - да, 0 - нет) и доминантная генетическая модель (АС + СС vs. АА) *AGT2R1* гена (1 - да, 0 - нет). Как представлено в табл. 4.7 коэффициенты  $\beta$  составляют при мекониальной аспирации 1,79, при оценке по шкале Апгар  $\leq$  на 5 минуте жизни - 2,82 и при генетической модели АС + СС vs. АА гена *AGT2R1* - 1,47.

Таблица 4.7

**Основные характеристики прогностической модели развития  
острого повреждения почек у новорожденных с асфиксией**

Прогностические переменные (да, нет)	$\beta$	m	p	ОШ	95% ДИ
Апгар $\leq$ 3 баллов на 5 минуте	2,82	0,86	0,001	16,88	3,13-90,93
Мекониальная аспирация	1,79	0,76	0,030	6,01	1,36-16,77
Доминантная модель (АС + СС vs. АА) гену <i>AGT2R1</i>	1,47	0,68	0,054	4,39	1,15-16,76
cons	-2,46	0,57	0,000		

Следующая формула (4.1) описывает риск развития ОПП в зависимости от 3 факторов: Апгар  $\leq 3$  баллов на 5 минуте (1=да, 0=нет); мекониальная аспирация (1=да, 0=нет); доминантная модель (АС + СС vs. АА) гена *AGT2R1* (1=да, 0=нет).

$$P = \alpha + B_1 (\text{Апгар} \leq 3 \text{ баллов на 5 минуте}) + B_2 (\text{Мекониальная аспирация}) + B_3 (\text{АС + СС ген } AGT2R1) \quad (4.1)$$

После подставления цифровых значений в формулу риск развития ОПП выглядит таким образом:

$$P = -2,46 + 2,82 (\text{Апгар} \leq 3 \text{ баллов на 5 минуте}) + 1,79 (\text{Мекониальная аспирация}) + 1,47 (\text{АС + СС гена } AGT2R1) \quad (4.2)$$

Анализ операционных характеристик нашей прогностической модели показал, что с увеличением количества факторов риска у отдельного ребенка повышаются операционные характеристики предложенной модели (табл.4.8). Прогностическая модель, включающая 3 фактора риска, имеет высокие операционные характеристики: чувствительность 55,1%, специфичность 94,1%, положительное предиктивное значение 78,6%, отрицательное предиктивное значение 84,2%, площадь под ROC кривой - 0,8054.

Таблица 4.8

**Операционные характеристики прогностических моделей развития ОПП, которые включают разное количество факторов риска**

Операционные характеристики	Количество факторов риска	
	2	3
Чувствительность	40,0%	55,1%
Специфичность	94,1%	94,1%
Позитивное предиктивное значение	72,7%	78,6%
Негативное предиктивное значение	80%	84,2%
Площадь под ROC кривой	0,7652	0,8054

Итак, острое повреждение почек является довольно распространенной патологией среди новорожденных с асфиксией, при этом олигурия и уровень мочевины в сыворотке крови не являются чувствительными диагностическими критериями ОПП, так как только у 7% детей определялась олигурия, а медианный показатель уровня мочевины на третьи сутки жизни составлял 7,45 (5,05-9,85) ммоль/л, что в пределах возрастной нормы. С развитием острого поражения почек при множественном логистическом регрессионном анализе достоверно ассоциируется доминантная модель (AC + CC vs. AA) гена AGT2R1гену (ОШ 4,39), Апгар <4 баллов на 5 минуте (ОШ 16,88) и мекониальная аспирация (ОШ 6, 01)

#### **4.2. Детерминанты развития дыхательных расстройств у детей при асфиксии**

У новорожденных с асфиксией, происходят характерные изменения в паттернах дыхания. Гипоксемия вызывает сужение легочных сосудов, в результате чего снижается легочный кровоток, возврат крови к левому предсердию, соответственно, снижается давление в левом предсердии [20]. Большинство детей со значительной асфиксией имеют повреждения легких и поэтому требуют применения искусственной вентиляции легких.

Легочная гипертензия является обычным явлением при асфиксии и может быть вызвана ее основной причиной - внутриутробной гипоксией с сосудистой гипертрофией или ответом на конкурентную гипоксию [139, 140, 149].

Результаты исследований на животных свидетельствуют, что низкое напряжение альвеолярного кислорода ( $PaO_2$ ) вызывает гипоксическую легочную вазоконстрикцию, в то время как увеличение напряжения кислорода в нормоксичных уровнях (преддуктальное артериальное парциальное давление кислорода ( $PaO_2$ ) от 60 до 80 мм рт.ст. и/или преддуктальное периферическое капиллярное насыщение кислородом от 90% до 97%) приводит к эффективной легочной вазодилатации. Гипероксия (преддуктальное  $PaO_2 > 80$  мм) не ведет к дальнейшему прогрессированию



легочной вазодилатации, поэтому в случае применения высоких концентраций кислорода во вдыхаемом воздухе кислород может проявлять свои токсические свойства [154].

Неонатальная гипоксемическая дыхательная недостаточность может произойти в случае отсутствия уменьшения легочного сосудистого сопротивления при рождении, что приводит к персистирующей легочной гипертензии новорожденных. Легочные сосудистые перестройки при рождении, требуют взаимодействия между несколькими вазоактивными медиаторами, основным из которых является оксид азота. Но он может инактивироваться супероксид анионом - веществом, которое играет ключевую роль в патофизиологии неонатальной гипоксемической дыхательной недостаточности [155].

#### **4.2.1. Анамнестические, клиничко-метаболические факторы риска и влияние полиморфизма генов *ACE*, *AGT2R1*, *eNOS* на развитие дыхательных расстройств**

Несмотря на то, что ДР - синдром, чаще всего ошел место у детей с асфиксией нами были проанализированы анамнестические, клинические, метаболические и генетические факторы риска развития указанного синдрома. Нарушения выявлялись в 72,2% детей с асфиксией. Причины потребности детей после гипоксического/асфиксического события в проведении ИВЛ разные. Это и депрессия дыхания, и легочная гипертензия, и мекониальная аспирация [28], поэтому все дети, которые требовали применения ИВЛ, были отнесены к группе детей с ДР без уточнения причин развития ( $n = 52$ ), а дети, которые не требовали применения ИВЛ - к группе детей без ДР ( $n = 20$ ). Исследование показало, ни один из материнских, акушерских и антенатальных факторов риска не ассоциировался с развитием ДР (табл.4.9), что делает невозможным предсказания возникновения данного синдрома только вследствие особенностей течения беременности и родов.

Таблица 4.9

**Материнские, акушерские и антенатальные факторы риска  
развития дыхательных расстройств у новорожденных с асфиксией**

Факторы риска (да, нет)	Дети без ДР, n=20	Дети с ДР, n=52	p	ОШ 95% ДИ	p
<i>Материнские состояния и акушерский анамнез (n/%):</i>					
Возраст матери:					
<20 лет	2 (10,0)	5 (9,6)	0,961	0,96 (0,17-5,39)	0,961
≥35 лет	3 (15,0)	4 (7,7)	0,388	0,47 (0,09-2,33)	0,357
Сердечно-сосудистые заболевания	1 (5,0)	3 (5,8)	0,898	1,16 (0,11-11,89)	0,899
Анемия у матери	4 (20,0)	6 (11,5)	0,352	0,52 (0,13-2,09)	0,358
Эндокринные заболевания	1 (5,0)	1 (1,9)	0,481	0,37 (0,02-6,26)	0,493
Репродуктивные потери	2 (10,0)	5 (9,6)	0,961	0,96 (0,17-5,39)	0,961
<i>Осложнения во время беременности, (n/%):</i>					
Преэклампсия	2 (10,0)	7 (13,5)	0,691	1,4 (0,26-7,39)	0,692
Урогенитальные инфекции	2 (10,0)	3 (5,8)	0,613	0,55 (0,08-3,57)	0,532
Угроза прерывания	5 (25,0)	20 (38,5)	0,408	1,87 (0,59-5,96)	0,287
Плацентарная недостаточность	5 (25,0)	13 (25)	1,00	1,0 (0,3-3,29)	1,00

Следующим шагом нашего исследования стал анализ особенностей состояния ребенка сразу после рождения и объема первичной реанимации. Как свидетельствуют результаты исследования, представленные в табл. 4.10, у детей с ДР медианный показатель оценки по шкале Апгар был достоверно меньше аналогичного показателя у детей без указанного синдрома, как на первой, так и на пятой минутах жизни, то есть каждый дополнительный балл

уменьшает шансы ребенка иметь ДР на 1 минуте жизни в 0,6 раз, а на 5 минуте в 0,39 раза. При этом количество детей с оценкой по шкале Апгар менее 5 баллов на 5 минуте жизни была достоверно выше среди детей без ДР, чем у детей с указанным состоянием. Новорожденным, у которых асфиксия сопровождалась ДР, во время реанимации достоверно чаще проводились ИВЛ, массаж сердца и вводился 4% раствор гидрокарбоната натрия. Таким образом, проведение ИВЛ при реанимации достоверно увеличивает шансы ребенка иметь ДР соответственно в 3,66 раза.

Таблица 4.10

**Оценка по шкале Апгар и частота проведения реанимационных мероприятий детям, стратифицированных в зависимости от наличия или отсутствия ДР**

Показатели	Дети без ДР n=20	Дети с ДР n=52	p	ОШ	95% ДИ	p
<i>Оценка по шкале Апгар, (баллы) [Me(Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)]:</i>						
1 минута	4 (4-5)	3 (2-4)	0,003	0,60	0,41-0,89	0,01
5 минута	6 (6-6)	5 (4-6)	0,001	0,39	0,19-0,80	0,01
Меньше 5 баллов на 5 минуте, n (%)	2 (10,0)	20 (38,5)	0,023	5,62	1,17-26,87	0,03
<i>Объем реанимационных мероприятий, в т.ч., n (%):</i>						
ИВЛ	12 (60,0)	44 (84,6)	0,024	3,66	1,14-11,81	0,03
массаж сердца	0	15 (28,9)	0,004	-	-	-
адреналин	0	7 (13,5)	0,091	-	-	-
0,9 % раствор NaCl	4 (20,0)	20 (38,5)	0,112	2,5	0,73-8,55	0,14
4,0 % раствор NaHCO <sub>3</sub>	0	9 (17,3)	0,043	-	-	-

Как и в случае любых критически больных новорожденных, у детей с асфиксией крайне важным является обеспечение оксигенации с целью максимального уменьшения шунтирования крови от жизненно важных органов. Как правило, легкие новорожденных с асфиксией хорошо реагируют

на проведение ИВЛ, при этом они не требуют жестких режимов вентиляции и дополнительного кислорода [7].

Причиной развития ДР и, соответственно, проведения ИВЛ стали Мекониальная аспирация - 25% (13 из 52), легочная гипертензия - 11,54% (6 из 52) и респираторная депрессия - 63,4% (33 из 52). В нашем исследовании медианный показатель средней продолжительности ИВЛ составил 4 (3-6) суток. Дети не требовали применения очень жестких режимов вентиляции ([Ме (Q1-Q3)] PEP max = 18 (15-23) см вод ст. и PEEP max = 4 (3-5) см.вод.ст.) и высокого процента кислорода ([Ме (Q1-Q3)] max FiO<sub>2</sub> 40 (30-50)%) со средней продолжительностью 7 (5-10) дней.

Изучение связи между развитием ДР и общими воспалительными биомаркерами не выявило достоверных ассоциаций между указанным состоянием и уровнем лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, СРБ, IL1, IL6 сыворотки крови и уровнем NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в моче (табл. 4.11).

Таблица 4.11

**Ассоциации между дыхательными расстройствами и общими воспалительными биомаркерами у новорожденных с асфиксией, M±m**

Прогностические переменные	Дети без ДР n=20	Дети с ДР n=52	p	ОШ	95% ДИ	p
Лейкоциты (10 <sup>9</sup> /л)	18,02±1,29	16,7±1,06	0,430	0,98	0,94-1,03	0,437
Палочкоядерные лейкоциты (%)	19,2±1,94	17,21±1,31	0,397	0,98	0,93-1,03	0,412
IL <sub>1</sub> (пг/мл)	0,968±0,13	0,92±0,15	0,810	0,94	0,53-1,65	0,822
IL <sub>6</sub> (пг/мл)	35,09±2,84	32,22±1,63	0,462	0,99	0,96-1,02	0,476
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> мкмоль/л	23,1±2,7	26,28±2,98	0,369	1,01	0,98-1,04	0,375

Изучение метаболического профиля обследованных детей в зависимости от наличия у них ДР показал, что у детей с указанной дисфункцией уровень эритроцитов и гемоглобина был достоверно ниже уровня аналогичных показателей детей без указанного состояния (табл.4.12). При этом увеличение эритроцитов на 1 единицу достоверно ассоциируется с уменьшением шансов развития ДР. Учитывая функции эритроцитов и

гемоглобина в обеспечении кислородом клеток организма ребенка, такие связи вполне оправданы.

Таблица 4.12

**Ассоциации между дыхательными расстройствами и метаболическими показателями у новорожденных с асфиксией**

Показатели (M±m)	Дети без ДР n=20	Дети с ДР n=52	p	ОШ	95% ДИ	p
Гемоглобин, (г/л)	191,3±3,62	182,1±2,86	0,050	0,97	0,94-1,003	0,083
Эритроциты, (10 <sup>12</sup> /л)	5,86±0,09	5,48±0,09	0,005	0,27	0,095-0,82	0,021
Гематокрит	50,77±1,2	49,63	0,484	0,98	0,93-1,04	0,502
Тромбоциты, (10 <sup>9</sup> /л)	195,31±5,66	198±3,90	0,697	1,00	0,99-1,02	0,685
Глюкоза, (ммоль/л)	3,68±0,19	3,71±0,21	0,923	1,01	0,78-1,31	0,927
Белок, (г/л)	56,16±1,42	55,8±1,11	0,841	0,99	0,95-1,05	0,846
Мочевина, (ммоль/л)	5,2±0,32	4,95±0,24	0,526	0,93	0,74-1,17	0,534
Креатинин, (мкмоль/л)	77,33±3,52	81,08±3,35	0,443	1,01	0,99-1,03	0,495
АЛТ, (Ед/л)	27,51±18,18	52,8±12,68	0,285	1,01	0,98-1,05	0,271
АСТ, (Ед/л)	34,5±15,39	138,9±32,7	0,012	1,03	0,99-1,07	0,076
ЛДГ, (Ед/л)	1036,7±104,73	1213,4±116,6	0,264	1,00	0,99-1,001	0,319
pH, (Ед)	7,34±0,03	7,28±0,02	0,119	0,04	0,001-4,07	0,177
pCO <sub>2</sub> , (Ед)	29,63±1,96	31,61±1,52	0,431	1,02	0,96-1,09	0,508
BE, (Ед)	-8,12±1,43	-7,77±1,13	0,848	1,001	0,925-1,09	0,871

Как было сказано выше, ДР сопровождаются артериальной гипотензией, поэтому мы проанализировали основные особенности гемодинамического и объемного статуса новорожденных с асфиксией. Дети с дыхательными расстройствами достоверно чаще получали медикаментозную поддержку гемодинамики - дофамин - 55,8% против 20,0% младенцев без ДР, p = 0,006. Следующим шагом нашего исследования стало выяснение роли генов ренин-ангиотензиновой системы в развитии ДР у новорожденных детей с асфиксией.

Отмечено, что ни одна из генетических моделей изучаемых генов, а также их сочетание, не ассоциировались с развитием дыхательных расстройств у новорожденных с асфиксией.

#### **4.2.2. Прогностическая модель развития дыхательных расстройств у доношенных детей при асфиксии**

Факторы риска, которые при простом логистическом регрессионном анализе ассоциировались с развитием ДР, были проанализированы с помощью множественного логистического регрессионного анализа. Выяснилось, что с достоверностью  $p < 0,1$  с развитием ДР ассоциировались: оценка по шкале Апгар  $< 5$  баллов на 5 минуте и суточный объем жидкости в течение на 1-х суток жизни (табл.4.13). При этом уровень гемоглобина, АСТ и проведения ИВЛ при реанимации не ассоциировались с развитием ДР у доношенных новорожденных с асфиксией.

*Таблица 4.13*

#### **Ассоциации между развитием дыхательных расстройств и исследуемыми прогностическими переменными при множественном логистическом регрессионном анализе**

Прогностические переменные	ДИ	95% ДИ	P
Оценка по шкале Апгар $< 5$ баллов на 5 мин., (да, нет)	12,3	1,18-127,47	0,035
ИВЛ при реанимации, (да, нет)	2,13	0,35-13,12	0,412
Гемоглобин (г/л)	0,95	0,85-1,06	0,407
АСТ (Ед)	1,03	0,98-1,09	0,176
Суточный объем жидкости в 1 сутки жизни (мл/кг)	1,13	1,03-1,25	0,010

Для построения прогностической модели были применены пошаговый множественный логистический регрессионный анализ, в который включены достоверные факторы риска, такие, как оценка по шкале Апгар  $< 5$  баллов на 5 мин. и суточный объем жидкости на 1 сутки жизни (мл/кг) (табл. 4.14).

Даже при наличии двух факторов риска операционные характеристики модели прогнозирования развития ДР достаточно высоки, в частности чувствительность составляет 94,9%, специфичность - 42,9%, положительное предиктивное значения - 82,2%, отрицательное предиктивное значение - 75% и площадь под ROC -кривой - 0,8223.

Таблица 4.14

**Прогностическая модель развития дыхательных расстройств  
у новорожденных с асфиксией**

Прогностические переменные	$\beta$	m	ОШ (95% ДИ)	P
Оценка по шкале Апгар <5 баллов на 5 мин.	2,66	1,17	14,37 (1,44-143,5)	0,023
Суточные объем жидкости в 1 сутки жизни (мл/кг)	0,123	0,05	1,13 (1,02-1,24)	0,012
_cons	-8,26	3,46		0,017

Итак, ДР выявлены у 72,2% детей с асфиксией, что требовало проведения ИВЛ в режиме нормовентиляции. Установлено, что ни один из материнских, акушерских, антенатальных и интранатальных факторов риска, общие воспалительные биомаркеры не ассоциировались с развитием ДР в данной когорте новорожденных. Однако данная дисфункция при простом логистической регрессионном анализе достоверно ассоциировалась с оценкой по шкале Апгар на 1 и 5 минутах жизни, проведением ИВЛ при первичной реанимации, уровнем эритроцитов и АСТ, а также СОЖ в первые сутки жизни. Ни одна из генетических моделей генов ренин-ангиотензиновой системы, а также их сочетание, не связано с развитием ДР у новорожденных с асфиксией.

При множественном логистическом регрессионном анализе развитие ДР достоверно ассоциировалось только с оценкой по шкале Апгар на 5 мин. и суточным объемом жидкости в 1 сутки жизни.

### **4.3. Клинико-генетические детерминанты развития дисфункций ЖКТ у новорожденных при асфиксии**

Кишечник имеет несколько зон, которые подвержены гипоксическому повреждению при асфиксии. Некротический энтероколит может возникать у этих детей, но это редкое осложнение [156]. Современные руководства терапевтической гипотермии у детей предполагают, что они не должны получать никакого энтерального питания до завершения гипотермии, что позволит слизистой оболочке кишки восстановиться. Охлаждение может улучшить состояние кишечника после ГИЭ, поэтому сейчас гипотермия рассматривается в качестве терапии у детей более старшего возраста с некротическим энтероколитом [157]. Возможность использования парентерального питания у таких новорожденных позволило клиницистам оставить в покое слизистую оболочку кишечника в течение нескольких дней, что, в свою очередь, позволяет восстановить кишечный барьер, нарушенный после гипоксических событий [158].

Считается, что повреждения печени у новорожденных с асфиксией, вероятно, вызвано гипоперфузией, а не гипоксией [159]. Уровни трансаминаз часто являются повышенными, но, как правило, они значительно улучшаются после 72 часов терапевтической гипотермии [139, 160].

В исследовании Национального института здоровья ребенка и развития человека (National Institute of Child Health and Human Development NICHD) показано, что среди детей с тяжелой асфиксией 17% детей имели нарушения функции печени [140].

В работе M.T Islam найдены некоторые корреляции между тяжестью перинатальной асфиксии и повышенным уровнем трансаминаз печени [161]. В отличие от этого, в модели ГИЭ на поросятах констатировано слабую корреляцию между уровнем трансаминаз в сыворотке крови и степенью повреждения тканей в патологических образцах, предполагая, что значительное нарушение функции печени может происходить при нормальном уровне трансаминаз [162]. Об увеличении ферментов печени у



новорожденного при тяжелой асфиксии свидетельствует целый ряд работ [107, 140, 149, 163]. Нарушение свертываемости крови у новорожденных после асфиксии является многофакторным. Альтерации в обеспечении печени и костного мозга кислородом может негативно повлиять на синтез факторов свертывания крови и тромбоцитов [160, 164].

#### **4.3.1. Анамнестические, клинические, метаболические и генетические факторы риска развития дисфункций ЖКТ**

Причины развития дисфункций ЖКТ у новорожденных с асфиксией могут быть гипоксического, инфекционного и сосудистого характера. В группу детей с дисфункциями ЖКТ отнесено детей ( $n = 29$ ), которые в течение первых трех суток жизни имели пищевую интолерантность (остаточный объем в желудке перед следующим кормлением, увеличение окружности живота более 2 см за последние 8 часов и ослабленные перистальтики при аускультации), дисфункцию печени (повышение уровня трансаминаз). В группу детей без дисфункций ЖКТ включены младенцы без вышеуказанных симптомов ( $n = 43$ ). В нашем исследовании среди детей с дисфункциями ЖКТ достоверно чаще выявлено увеличение печени, такие дети достоверно позже переходили на полное энтеральное питание (табл.4.15).

*Таблица 4.15*

#### **Клинические проявления дисфункции ЖКТ у новорожденных с асфиксией**

Показатели	Дети без ДЖКТ $n=43$	Дети с ДЖШКТ $n=29$	$p$	ОШ 95% ДИ	$p$
Гепатомегалия, $n$ (%)	6 (14)	19 (65,5)	0,000	11,7 (3,69-37,13)	0,000
Начало ЭП (сутки), $M \pm m$	1,08 $\pm$ 0,19	2,75 $\pm$ 0,86	0,035	2,1 (0,92-4,83)	0,078
Грудное молоко $n$ (%)	40 (93,0)	20 (68,9)	0,272	0,18 (0,01-2,06)	0,168
Полное ЭП (сутки), $M \pm m$	2,0 $\pm$ 0,57	10,6 $\pm$ 0,66	0,0002	3,2 (1,23-8,45)	0,009

Следует отметить, что дети без проявлений дисфункций ЖКТ чаще, чем дети с дисфункциями ЖКТ, кормились грудным молоком, однако эта разница была не достоверной.

У новорожденных с асфиксией дисфункции ЖКТ достоверно чаще сочетались с тяжелыми дыхательными расстройствами, при этом потребность ребенка в ИВЛ достоверно ассоциируется с развитием указанного состояния (табл.4.16). С достоверностью меньше 0,1 дисфункции ЖКТ связанные с развитием ГИЭ. Таким образом, новорожденным с асфиксией, которые требовали проведения ИВЛ, нужно откладывать начало энтерального питания.

Таблица 4.16

**Связь дисфункций ЖКТ с развитием синдромов, которые ассоциируются с асфиксией, n (%)**

Синдромы	Дети без ДЖКТ n=43	Дети с ДЖКТ n=29	p	ОШ (95% ДИ)	p
Дыхательные расстройства	25 (58,1)	27 (93,1)	0,001	9,72 (2,05-46,2)	0,004
Синдром меконияльной аспирации	8 (18,6)	6 (20,7)	0,826	1,14 (0,35-3,721)	0,827
Легочная гипертензия	4 (9,3)	3 (10,3)	0,884	1,125 (0,23-5,44)	0,884
Дисфункция миокарда	7 (16,3)	6 (20,7)	0,633	1,34 (0,40-4,49)	0,634
Гипоксически-ишемическая энцефалопатия	13 (30,2)	15 (51,7)	0,067	2,47 (0,93-6,57)	0,069

Анализ состояния детей сразу после рождения показал, что дети с дисфункциями ЖКТ были оценены достоверно низкими баллами по шкале Апгар, чем дети без указанного состояния, как на 1 так и на 5 минутах жизни (табл.4.17).

Таблица 4.17

**Оценка состояния ребенка по шкале Апгар и объем реанимационных мероприятий детям в зависимости от наличия или отсутствия дисфункции ЖКТ**

Показатели	Дети без ДЖКТ n=43	Дети с ДЖКТ n=29	p	ОШ 95% ДИ	p
Оценка по шкале Апгар, баллы [Me(Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> )]					
1 минута	4,05±0,22	2,83±0,28	0,001	0,57 (0,39-0,81)	0,002
5 минута	5,39±0,16	4,45±0,26	0,003	0,53 (0,34-0,81)	0,004
Апгар <5 баллов на 5 мин., n (%)	9 (20,9)	13 (44,8)	0,039	3,06 (1,09-8,66)	0,034
ИВЛ	30 (69,8)	26 (89,7)	0,081	3,75 (0,96-14,64)	0,057
массаж сердца	4 (9,3)	11 (37,9)	0,006	5,96 (1,66-21,29)	0,006
адреналин	3 (7)	4 (13,8)	0,429	2,13 (0,44-10,34)	0,347
0,9 % раствор NaCl	9 (20,9)	15 (51,7)	0,007	4,05 (1,44-11,39)	0,008
4,0% раствор NaHCO <sub>3</sub>	1 (2,3)	8 (27,6)	0,002	16,0 (1,87-136,5)	0,011

Мероприятия по первичной реанимации также достоверно чаще применялись детям с дисфункциями ЖКТ. Оценивания ребенка по шкале Апгар менее 5 баллов на 5 мин. жизни в 3 раза, введение физиологического раствора при реанимации - в 4 раза, а введение 4% раствора гидрокарбоната натрия - в 16 раз повышает шансы ребенка иметь это состояние.

Исследование связи развития дисфункций ЖКТ с общими воспалительными биомаркерами выявило наличие связи на уровне <0,1 с уровнем лейкоцитов на 1 сутки жизни ребенка (табл.4.18), что может свидетельствовать о вкладе инфекционного генеза в развитие указанной дисфункции у новорожденных с асфиксией.

Уровень креатинина в группах детей стратифицированных в зависимости от наличия или отсутствия ДЖКТ, был почти одинаковым, что свидетельствует об отсутствии привлечения почек к повышению мочевины в

сыворотке крови. Наверное, именно сосудистые механизмы играют в развитии ДЖКТ весомую роль. Что касается других показателей метаболического профиля, то они также между группами достоверно не отличались.

Таблица 4.18

**Ассоциации между дисфункциями желудочно-кишечного тракта и общими воспалительными биомаркерами у новорожденных с асфиксией**

Прогностические переменные	Дети без ДЖКТ n=43	Дети с ДЖКТ n=29	p	ОШ	95% ДИ	p
Лейкоциты ( $10^9/л$ ), $M \pm m$	19,5 $\pm$ 1,6	15,2 $\pm$ 1,15	0,054	0,93	0,87-1,00	0,068
Палочкоядерные лейкоциты (%), $M \pm m$	13,4 $\pm$ 0,9	14,3 $\pm$ 1	0,48	1,03	0,94-1,12	0,497
IL <sub>1</sub> (пг/мл), $M \pm m$	1,0 $\pm$ 0,16	1,04 $\pm$ 0,35	0,905	1,04	0,57-1,92	0,889
IL <sub>6</sub> (пг/мл), $M \pm m$	32,5 $\pm$ 3,37	27,7 $\pm$ 3,31	0,321	0,98	0,94-1,02	0,354
Повышенный уровень СРБ, n(%)	14 (32,5)	14 (48,3)	0,180	1,93	0,73-5,09	0,182

Исследование влияния полиморфных вариантов *ACE*, *AGT2R1*, *eNOS* генов на ДЖКТ у новорожденных с асфиксией выявило достоверную обратную связь между указанной дисфункцией и полиморфными вариантами *eNOS* гена (табл.4.19).

Таблица 4.19

**Частота развития дисфункции ЖКТ у детей, стратифицированных в зависимости от генетических моделей *ACE*, *AGT2R1*, *eNOS* генов и их сочетания**

Генетические модели	Дети без ДЖКТ	Дети с ДЖКТ	p	ОШ (95% ДИ)	p
<b><i>ACE</i></b>	n=43	n=28			
II vs. ID+DD	7 (24,1)	3 (14,3)	0,488	0,62 (0,14-2,62)	0,513
ID vs. DD+II	22 (75,9)	18 (85,7)	0,285	1,71 (0,64-4,56)	0,278

Продолжение табл. 4.19

Генетические модели	Дети без ДЖКТ	Дети с ДЖКТ	p	ОШ (95% ДИ)	p
<b>AGT2R1</b>	n=43	n=28			
AC+CC vs. AA	15 (34,9)	8 (28,6)	0,579	0,75 (0,26-1,09)	0,579
<b>eNOS</b>	n=43	n=27			
bb vs 4aa+4ab	22 (51,2)	20 (74,1)		2,72 (0,86-9,17)	0,056
4aa+4ab vs. bb	21 (48,8)	7 (25,9)	0,057	0,36 (0,13-1,05)	0,056

В частности, доминантная модель (aa + ab) достоверно снижала шансы ребенка иметь ДЖКТ, а соответственно рецессивная модель - увеличивала. Сочетание изучаемых генетических моделей не выявило существенного влияния на развитие дисфункции ЖКТ.

#### **4.3.2. Прогностическая модель развития дисфункции ЖКТ у новорожденных при асфиксии**

Для определения клинико-метаболических и генетических детерминант развития ДЖКТ провели множественный логистический регрессионный анализ, куда были включены все прогностические переменные с уровнем достоверности <0,1 при простом логистическом регрессионном анализе, в частности дихотомические переменные: генетическая модель 4bb vs. 4aa + 4ab eNOS гена, мочевины <6,0 ммоль / л (да - 1, 0 - нет), глюкоза <3,3 ммоль/л (да - 1, 0 - нет), введение 4% раствора гидрокарбоната натрия (так - 1, 0 - нет), введение физиологического раствора (да - 1, 0 - нет), а также постоянные переменные: оценка по шкале Апгар на 1 и 5 минутах и уровень лейкоцитов.

При пошаговом множественном логистическом регрессионном анализе выяснилось, что введение 0,9% NaCl при реанимации, уровень лейкоцитов не ассоциировались с развитием дисфункции ЖКТ. Однако оценка по шкале Апгар на 5 минуте, введение 4% раствора гидрокарбоната натрия, уровень глюкозы меньше 3,3 ммоль/л, уровень мочевины < 6,0 ммоль/л и рецессивная модель eNOS остались достоверными факторами риска развития дисфункции желудочно-кишечного тракта (табл.4.20).

Таблица 4.20

**Ассоциации между развитием дисфункции ЖКТ и факторами риска при множественном логистическом регрессионном анализе**

Прогностические переменные	ОШ 95% ДИ	p
Апгар 5 (баллы)	0,51 (0,26-1,02)	0,057
Введение 0,9 % NaCl (1 - да, 0 - нет)	0,28 (0,035-2,25)	0,233
Введение 4 % NaHCO <sub>3</sub> (1 - да, 0 - нет)	77,2 (1,42-4184,3)	0,033
Мочевина <6,0 ммоль / л (1 - да, 0 - нет),	0,65 (0,41-1,03)	0,071
Глюкоза < 3,3ммоль/л (1 - да, 0 - нет)	9,53 (1,57-57,9)	0,014
Уровень лейкоцитов (10 <sup>9</sup> /л)	0,88 (0,71-1,09)	0,242
eNOS4a генотип (1 - да, 0 - нет)	0,24 (0,09-0,90)	0,04

Для окончательной прогностической модели развития дисфункции ЖКТ у новорожденных с асфиксией было выбраны такие прогностические переменные: оценка по шкале Апгар <5 баллов на 5 минуте (1 - да, 0 - нет), введение 4% раствора гидрокарбоната натрия при реанимации (1 - да, 0 - нет), глюкоза <3,3 ммоль / л , (1 - да, 0 - нет), мочевины <6,0 ммоль / л (1 - да, 0 - нет), и рецессивная модель (4bb vs. 4AA + 4ab) eNOS (1 - да, 0 - нет) (табл. 4.21).

Таблица 4.21

**Основные характеристики прогностической модели развития дисфункции ЖКТ у новорожденных при асфиксии**

Прогностические переменные (да, нет)	$\beta$	m	p	ОШ	95% ДИ
Апгар < 5 баллов на 5 минуте	2,01	0,91	0,027	7,5	1,25-45,0
Введение 4 % NaHCO <sub>3</sub>	3,72	1,62	0,022	41,5	1,7-1008,5
Глюкоза < 3,3 ммоль/л	2,25	0,92	0,014	9,53	1,57-57,92
Мочевина < 6,0 ммоль/л	2,64	1,27	0,039	14,1	1,15-172,9
4bb vs 4aa+4ab eNOS	1,38	0,66	0,037	3,99	1,09-14,65
cons	-1,95	0,88	0,028	3	

Представленная следующая формула (4.3) описывает риск развития дисфункции ЖКТ в зависимости от 5 факторов: Апгар  $\leq 5$  баллов на 5 минуте, введение 4 % гидрокарбоната натрия при реанимации, глюкоза меньше 3,3 ммоль/л, мочевины  $< 6,0$  ммоль/л, и генетическая модель *eNOS* 4bb vs. 4aa+4ab.

$$P = \alpha + B_1 (\text{Апгар} \leq 5 \text{ баллов на 5 минуте}) + B_2 (4 \% \text{ NaHCO}_3) + B_3 \quad (4.3)$$

$$(\text{Глюкоза} < 3,3 \text{ ммоль/л}) + B_4 (\text{Мочевина} < 6,0 \text{ ммоль/л}) + B_5$$

(рецессивная модель *eNOS4*)

После подставления цифровых значений в формулу риск развития дисфункции ЖКТ выглядит следующим образом:

$$P = -1,95 + 2,01 (\text{Апгар} \leq 5 \text{ баллов на 5 минуте}) + 3,72 (4 \% \text{ NaHCO}_3) + \quad (4.4)$$

$$2,25 (\text{Глюкоза} < 3,3 \text{ ммоль/л}) + 2,64 (\text{Мочевина} < 6,0 \text{ ммоль/л}) + 1,3$$

(рецессивная модель *eNOS4*)

Анализ операционных характеристик нашей прогностической модели показал, что с увеличением количества факторов риска у отдельного ребенка повышается операционные характеристики предложенной модели (табл.4.22)

Таблица 4.22

**Операционные характеристики прогностических моделей  
развития дисфункции желудочно-кишечного тракта, включающие  
разное количество факторов риска**

Операционные характеристики	Количество факторов риска:			
	2	3	4	5
Чувствительность (%)	27,6	41,4	37,93	74,07
Специфичность (%)	97,7	95,4	95,35	74,42
Позитивное предиктивное значение (%)	88,9	85,7	84,62	65,52
Негативное предиктивное значение (%)	66,7	70,7	69,49	82,05
Площадь под ROC кривую	0,6925	0,7751	0,8043	0,8424

Площадь под ROC кривой прогностической модели, которая содержит 5 факторов, является наиболее высшей и составляет 0,8424.

#### **Выводы к разделу 4**

1. Острое поражение почек выявлено у 20 (27,8%) детей с асфиксией, в т.ч. в 43,2% детей с тяжелой асфиксией, что значительно ниже данных приведенных иностранными учеными, при этом только 7% обследованных нами детей имели олигурию.

2. Достоверными факторами риска развития острого поражения почек при множественном регрессионном анализе является оценка по шкале Апгар менее 4 баллов на 5 минуте, синдром мекониальной аспирации и доминантная модель (AC + CC vs. AA) *AGT2R1* гена. Алгоритм прогнозирования развития острого поражения почек, включает оценку по шкале Апгар менее 4 баллов на 5 минуте (1 - да, 0 - нет), синдром мекониальной аспирации (1 - да, 0 - нет) и доминантную модель (AC + CC vs . AA) *AGT2R1* гена (1 - да, 0 - нет), имеет высокие операционные характеристики: чувствительность 55,1%, специфичность 94,1%, положительное предиктивное значение 78,6%, отрицательное предиктивное значение 84,2% и площадь под ROC кривой 0,8054.

3. Дыхательные расстройства выявлялись в 72,2% детей с асфиксией, что требовало применения им ИВЛ со средней продолжительностью 4 (3-6) суток, PEP 18 (15-23) см вод ст. и РЕЕР max = 4 (3-5) см.вод.ст., с применением максимального FiO<sub>2</sub> 40 (30-50)%, общей продолжительностью кислородной терапии - 7 (5-10) дней. ДР при логистическом регрессионном анализе достоверно ассоциировались с оценкой по шкале Апгар на 1 и 5 минутах жизни, проведением ИВЛ при первичной реанимации (увеличивает шансы в 3,66 раза), уровнем эритроцитов и АСТ, а также суточным объемом жидкости в первые сутки жизни. При множественном логистическом регрессионном анализе развитие ДР достоверно ассоциировался только с оценкой по шкале Апгар на 5 мин. и суточным объемом жидкости в 1 сутки жизни. Операционные характеристики модели прогнозирования развития ДР



оказались следующими: умеренная специфичность (42,9%) и чувствительность составляет (94,9%), положительное предиктивное значение (82,2%), отрицательное предиктивное значение (75%) и площадь под ROC-кривой (0,8223).

4. У детей с дисфункциями ЖКТ достоверно чаще выявлялось увеличение печени, они достоверно позже начинали энтерально получать пищу, и, соответственно, позже переходили на полное энтеральное питание. Достоверными факторами риска развития дисфункции ЖКТ при множественном логистическом регрессионном анализе оказались: оценка по шкале Апгар менее 4 баллов на 5 минуте, введение 4% раствора гидрокарбоната натрия, уровень глюкозы меньше 3,3 ммоль/л, уровень мочевины меньше 6,0 ммоль/л и рецессивная модель (4bb vs. 4AA + 4ab) *eNOS*. Операционные характеристики прогностической модели, включающей 5 факторов риска, являются высокими, в частности чувствительность составляет 74,0%, специфичность - 74,4%, положительное предиктивное значение - 65,5%, отрицательное предиктивное значение - 82,1% и площадь под ROC кривой - 0,8424.

## РАЗДЕЛ 5

### ИНТЕГРИРОВАННАЯ МОДЕЛЬ ПРЕДИКЦИИ РАЗВИТИЯ ОРГАННЫХ ДИСФУНКЦИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ С АСФИКСЕЮ И ПРИКЛАДНЫЕ ТОЧКИ ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ

По данным ВОЗ каждый день в мире умирают 18 000 детей от предупредительных болезней и обстоятельства, при этом большинство этих потерь можно избежать за счет уменьшения количества осложнений, связанных с преждевременным рождением, асфиксией и тяжелыми инфекциями [1].

Возможности для улучшения здоровья новорожденных являются беспрецедентными именно сейчас, потому что нам известно гораздо больше, чем раньше, про эффективные интервенции и пути предоставления услуг, подходы к увеличению охвата медицинской помощью всех, кто в ней нуждается, а также про меры по повышению качества предоставления медицинской помощи.

Патофизиологические циркуляторные и нециркуляторные механизмы защиты витальных органов (мозга, сердца, надпочечников) от действия гипоксии / асфиксии хорошо изучены [7]. Но не у всех новорожденных они работают одинаково и последовательно. Ученые предполагают, что варибельность генетически детерминированных адаптивных и компенсаторных механизмов при асфиксии, способствует развитию различных полиорганных дисфункций у пациентов, которые на первый взгляд имели одинаковое гипоксическое событие [7, 59].

Физиология плода существенно структурно и функционально отличается от новорожденного. Переход от внутриутробной к внеутробной жизни требует быстрых, сложных и хорошо отрежиссированных шагов для обеспечения выживания новорожденных. При этом асфиксия в корне меняет физиологию перехода ребенка от внутриутробной к внеутробной жизни,

требует четкого понимания и вдумчивого подхода к менеджменту пострадавших новорожденных, особенно в первые часы жизни.

Обзор литературы позволил нам выявить современные ключевые патофизиологические механизмы развития органных дисфункций у новорожденных при асфиксии, основными из которых являются: сохранение кровотока в головном мозге, сердце и надпочечниках, при лишении перфузии невитальных органов (почки, легкие, желудочно-кишечный тракт), а также наличие циркуляторных и нециркуляторных адаптивных механизмов, которые позволяют плоду справиться с прекращением плацентарного кровотока. Однако у некоторых детей эти механизмы быстро истощаются или вообще не работают, что приводит к повреждению органов и систем ребенка. Патофизиологические механизмы, лежащие в основе дисфункции органов остаются недостаточно выясненными, особенно сложным является понимание взаимодействия различных метаболических путей у отдельного индивидуума.

Для достижения цели проведения мультицентровое исследование «случай-контроль», в которое включены 72 ребенка, родившихся с оценкой по шкале Апгар менее 7 баллов на 5 минуте жизни и имели рН пуповинной крови  $<7,25$ , и 35 здоровых новорожденных детей, имели больше 7 баллов.

Среди обследованных новорожденных, которые были оценены 4-6 баллов на 5 минуте жизни, так и среди новорожденных с оценкой 0-3 баллов, часто фиксировались дисфункции органов, в частности синдром дыхательных расстройств, соответственно, в 54,3% и 89,2% детей, артериальная гипотензия - в 37,1% и 48,6% детей, дисфункции ЖКТ - в 22,9% и 56,8% детей, гипоксически-ишемическая энцефалопатия - в 20% и 56,8% детей, острое повреждение почек - в 11,43% и 43,2% детей и дисфункции миокарда - в 17,1% и 18,9% детей.

Изучение генетических детерминант развития асфиксии выявило достоверное влияние доминантной модели (4AA + 4ba vs. bb) *eNOS* гена на развитие асфиксии (ОИШ 2,67), при этом модель DD vs. ID + II ACE гена

достоверно повышала шансы ребенка иметь тяжелое течение асфиксии (ОШ 2,77,  $p = 0,05$ ).

Предикцию поражений органов и систем новорожденного при асфиксии мы рассматривали с точки зрения патогенетических механизмов, которые происходят при указанном заболевании. Поэтому в основу интегрированной модели положен патофизиологический механизм циркуляторных и нециркуляторных адаптационных реакций, предложенный P.Shah [9]. На фоне повышения церебрального, коронарного и надпочечникового кровотока снижается: а) ренальный кровоток, что приводит к острому поражению почек б) легочный кровоток, что приводит к развитию дыхательных расстройств и, в частности, первичной персистирующей легочной гипертензии, в) интестинальный кровоток, что приводит к дисфункции ЖКТ и НЭК, г) печеночный кровоток, что приводит к гипогликемии и повышению ферментов печени.

Из обзора на это нами было изучено частоту развития поражений витальных и невитальных органов у новорожденных при асфиксии и идентифицированы детерминанты их развития. Как представлено на рис.5.2. поражение невитальных органов происходит чаще, чем витальных.

Исторически диагноз асфиксия у новорожденных отождествлялся с диагнозом гипоксически-ишемическая энцефалопатия, однако наше исследование показало, что у детей, которые родились с оценкой по шкале Апгар менее 7 баллов, при условии отсутствия в них проявлений гипоксически-ишемической энцефалопатии фиксировались дисфункции других органов, что свидетельствует о важности предвидения и прогнозирования развития поражений органов и систем организма даже при отсутствии клинических признаков поражения мозга.

Анализируя в целом детерминанты развития как витальных, так и невитальных органов, можно подтвердить мнение других ученых по незначительной роли ante- и интранатальных факторов риска в развитии полиорганной дисфункции.

## ПРЕКРАЩЕНИЕ ПЛАЦЕНТАРНОГО КРОВОТОКА



Рис.5.1 Интегрированная модель предикции развития органических дисфункций у новорожденных при асфиксии

В нашем исследовании только слабость родовой деятельности достоверно ассоциировалась с развитием ГИЭ, а мекониальная аспирация - с ОПП. Что касается оценки по шкале Апгар и мероприятий по первичной реанимации, то оценка  $< 5$  баллов на 5 минуте жизни достоверно ассоциировалась лишь с развитием дисфункций невитальных органов. Мы объясняем это тем, что при асфиксии именно последние могут компенсировать поражение витальных органов за счет циркуляторных реакций, поэтому при подостром незначительном инсульте поражения сердца и мозга может не состояться, однако почки, легкие и желудочно-кишечного тракта могут пострадать. Считаем, что при оценке  $< 7$  баллов на 5 минуте, даже при отсутствии проявлений ГИЭ и ДМ, у новорожденного с асфиксией должен происходить тщательный мониторинг за состоянием невитальных органов.

Из мероприятий первичной реанимации с развитием ГИЭ достоверно ассоциировалось введение физиологического раствора, а с развитием дисфункции ЖКТ - введение 4% раствора  $\text{NaHCO}_3$ . Мы считаем, что введение этих растворов без аргументированных показаний может быть дополнительным повреждающим фактором и усиливать риски развития дисфункции мозга и ЖКТ. Про индивидуализированный подход к менеджменту новорожденных с асфиксией свидетельствует и наличие достоверной связи между развитием дыхательных расстройств и суточным объемом жидкости в 1 сутки жизни ребенка.

Ключевыми биомаркерами развития органных дисфункций у детей с асфиксией, по нашим данным, является уровень глюкозы, мочевины, ЛДГ и креатинина сыворотки крови. В частности, низкий уровень глюкозы достоверно ассоциируется с развитием дисфункций миокарда и желудочно-кишечного тракта, что, скорее всего, обусловлено поражением печени при асфиксии [7], а уровень креатинина  $> 110$  мкмоль / л и ЛДГ  $> 1700$  Ед / л с неонатальной энцефалопатией. С развитием ДМ достоверно связан уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- < 21$  мкмоль / л в моче. По нашему мнению, именно

пониженный уровень NO может уменьшать коронарный кровоток за счет недостаточной компенсаторной вазодилатации, которая происходит при асфиксии.

Наше исследование показало, что наличие генетической модели CC + CA vs. AA *AGT2R1* гена у новорожденных с асфиксией повышает риск развития ОПП (ОШ 4,39; 95% ДИ 1,15-16,76), а рецессивная модель (4bb vs. 4ab + 4AA) *eNOS* гена - к развитию дисфункций ЖКТ (ОШ 3,9; 1,09-14,65). По нашему мнению, именно генетически детерминированные циркуляторные изменения в жизненно важных органах могут способствовать разному поражению и, соответственно, проявлениям дисфункции органов у новорожденных, которые имели примерно одинаковое гипоксическое / асфиксическое событие. Подтверждением этого является и генетически детерминированные изменения концентрации  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче в 1 сутки жизни, которые косвенно отражают уровень NO - известного сосудистого метаболита. Нами обнаружены достоверные ассоциации между уровнем  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  у новорожденных с асфиксией и доминантной моделью (AC + CC vs. AA) гена *AGT2R1*, доминантной моделью (aa + ab vs. bb) *eNOS* гена. Генетически детерминированным оказался и уровень креатинина у новорожденных с асфиксией. Как свидетельствуют результаты исследования, наличие С аллели гена *AGT2R1* достоверно связано с повышенным уровнем креатинина - ОШ 1,02 95% ДИ 1,00-1,03. Результаты нашей работы совпадают с результатами исследований, проведенных у взрослых.

Применение современных статистических методов позволило нам разработать прогностические модели развития поражений витальных и невитальных органов. Так, прогностическая модель развития гипоксически-ишемической энцефалопатии, включающей введение физиологического раствора при первичных реанимационных мероприятиях (ОШ 9,16;  $p = 0,028$ ), уровень ЛДГ > 1700 ед / л (ОШ 7,41;  $p = 0,056$ ) и уровень креатинина > 110 ммоль / л (ОШ 15,89;  $p = 0,037$ ), имела площадь под ROC кривой 0,8711. Развитие дисфункции миокарда достоверно ассоциировалось с уровнем

глюкозы  $<3,3$  ммоль / л (ОШ 11,6;  $p = 0,055$ ), мочевины  $> 7,0$  ммоль / л (ОШ 21,3;  $p = 0,040$ ) и уровнем  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- <21$  мкмоль / л в моче (ОШ 15,21;  $p = 0,006$ ), при этом последний достоверно был связан с 4aa + 4ab генетической моделью *eNOS* гена и доминантной моделью (AC + CC) *AGT2R1* гена. С развитием острого повреждения почек при множественном логистическом регрессионном анализе достоверно ассоциируются генетическая модель CC + AC vs. AA *AGT2R1* гена (ОШ 4,39,  $p = 0,054$ ), оценка по шкале Апгар  $<4$  баллов на 5 минуте жизни (ОШ 16,88;  $p = 0,001$ ) и мекониальная аспирация (ОШ 6,01,  $p = 0,030$ ). Операционные характеристики прогностической модели развития острого повреждения почек достаточно высокие - площадь под ROC кривой составляет 0,8054. Прогностическая модель развития дисфункции ЖКТ, включающая оценку по шкале Апгар  $<5$  баллов на 5 мин. (ОШ 7,5,  $p = 0,027$ ), введение 4% раствора  $\text{NaHCO}_3$  при проведении реанимационных мероприятий (ОШ 41,5,  $p = 0,022$ ), уровень глюкозы  $<3,3$  ммоль / л (ОШ 9,53;  $p = 0,014$ ), уровень мочевины  $<6,0$  (ОШ 0,07;  $p = 0,039$ ) и рецессивную модель *eNOS* (ОШ 3,99,  $p = 0,037$ ), также имела высокие операционные характеристики - площадь под ROC кривой указанной прогностической модели составляет 0,8424.

Мы считаем, что результаты нашего исследования, кроме прогнозирования, позволят нам определять примерное время возникновения гипоксического события. Как представлено на рис. 5.2 гипоксическое событие может происходить во время беременности, во время родов, а также пролонгироваться и после рождения, при этом клинические проявления гипоксического/асфиксического события будут зависеть от адаптации и уровня компенсации со стороны невитальных органов и являться генетически детерминированным.

По нашему мнению степень поражения невитальных органов опосредованно может свидетельствовать о продолжительности гипоксии.



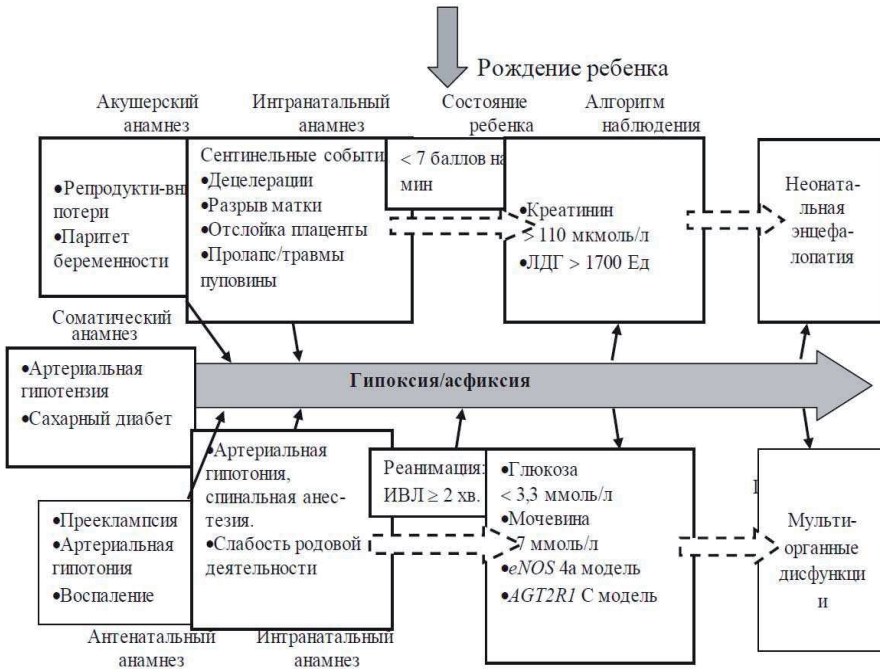


Рис.5.2. Алгоритм формирования полиорганных дисфункций в зависимости от времени гипоксически/асфиксического события

Оценивая научные источники и современные взгляды на патогенез развития асфиксии, а также результаты собственных исследований, мы предполагаем, что после гипоксического события на ante/интранатальном этапах, динамика состояния ребенка после рождения может происходить по 4-м клиническим сценариями (рис.5.3). Первый клинический сценарий, когда состояние ребенка относительно стабильное без признаков дисфункции невитальных органов, что свидетельствует о нетяжелом непродолжительном гипоксическом событии, при которой циркуляторные механизмы адаптации скомпенсировали и не вызвали поражения органов.

При втором клиническом сценарии состояние ребенка может быть стабильное, но возможны незначительные проявления дисфункций органов, которые были скомпрометированы гипоксией в подострой форме. По нашему

мнению, очень важным является выявление признаков полиорганной дисфункции как можно раньше, для этого мы и рекомендуем у детей, которые были оценены менее 7 баллов по шкале Апгар, которым проводилась ИВЛ любой продолжительности, и особенно у детей, чьи матери имели сентинельные (пограничные) события, например, изменение ЧСС плода во время их регистрацию (отсутствует вариабельности или децелерации), разрыв матки, отслойку плаценты, пролапс или травмы пуповины.

### Клинические сценарии течения гипоксического/асфиксического события



Рис.5.3. Клинические сценарии состояния новорожденного после гипоксического события.

В нашем исследовании часть новорожденных с асфиксией не демонстрировали значительного циркуляторного коллапса при рождении. В этих случаях инсульт, скорее всего, произошел в подострой форме, что позволило плоду «самостоятельно реанимироваться» в утробе матери. Роды

были неосложненными, и новорожденный не нуждался в серьезном вмешательстве. У таких детей тяжелая асфиксия сначала может быть не установлена, но в дальнейшем, в пределах от 12 до 24 часов может развиваться поражение органов и систем организма ребенка [254]. Поэтому именно дети с подострым инсультом требуют пристального внимания и тщательного мониторинга развития у них дисфункции любого органа.

При третьем клиническом сценарии состояние ребенка тяжелое, со значительными проявлениями полиорганных дисфункций витальных и невитальных органов, что, по нашему мнению, может свидетельствовать о тяжелом и длительном гипоксическом событии. Именно анализ признаков поражения многих органов поможет акушерам-гинекологам сконцентрировать свое внимание на соответствующих временных промежутках вероятного возникновения гипоксии.

При четвертом клиническом сценарии, который происходит при кратковременной, но «тотальной» асфиксии наблюдается тяжелое поражение витальных органов без проявлений дисфункций невитальных органов, что обусловлено скорее быстротечностью патогенетического процесса и отсутствия времени для компенсации со стороны невитальных органов.

Полученные результаты исследования позволили нам разработать диагностический алгоритм наблюдения за детьми с вероятным гипоксическим событием. При наличии у ребенка не менее одного из следующих признаков: сентинельное событие (отсутствует вариабельности или децелерации при электронном фетальном мониторинге, разрыв матки, отслойка плаценты, пролапс или травмы пуповины), оценка ниже 7 баллов на 5 минуте жизни, рН пуповинной крови  $<7,25$ , применение ИВЛ при реанимации (рис.5.4) дополнительно к рекомендациям, изложенным в новом Приказе Минздрава по первичной реанимации №225 от 2014 года, проводить дополнительное обследование:

- акушерские стационары II уровня - общий анализ крови, глюкозу, креатинин, мочевины, ЛДГ,

- акушерские стационары III уровня - определение оксида азота в моче, полиморфизм генов.

*Приказ МОЗ Украины № 225*

*от 29.03.2014 г*

*Дополнительные*

*обследования*

**Постнатальный уход за ребенком, которому проводилась непродолжительная ИВЛ:**

При отсутствии признаков клинических проблем врачу необх провести повторный осмотр этого ребенка не позднее, чем через 12 часов, потом – ежедневно в течение 3 дней.

В течение первых суток жизни ребенку необходимо оценивать показатели функций жизнедеятельности каждые 3 часа, в течение 2 суток – минимум каждые 6 часов.

Новорожденный, который после непродолжительной ИВЛ был переведенный на савмесное пребывание с матерью в удовлетворительном состоянии, **не требует рутинного проведения лабораторных и инструментальных обследований.**



**Акушерские стационары II уровня**

- глюкоза
- креатинин
- мочеви́на
- ЛДГ

**Акушерские стационары III уровня**

- определение оксида азота
- полиморфизм генов

Рис.5.5. Усовершенствованный алгоритм наблюдения за новорожденными, которые родились с асфиксией.

Таким образом, в диссертации предложено теоретическое обоснование и новое решение актуальной проблемы неонатологии - прогнозирование развития органов дисфункций при асфиксии у новорожденных и усовершенствование алгоритма наблюдения за ними с целью снижения заболеваемости и инвалидизации детей, перенесших асфиксию. Доказано генетической детерминированности циркуляторных адаптивных реакций у новорожденных при асфиксии, способствует развитию в них дисфункции органов и систем организма.

## Выводы к разделу 5

1. Обоснована интегрированная модель предикции развития органических дисфункций и алгоритм наблюдения за новорожденными, которые оценены менее 7 баллов на 5 мин. жизни, с целью стратификации детей, подлежащих лечебной гипотермии, и предупреждения развития у них ранних и отдаленных неблагоприятных последствий.
2. Доказано, что интегрированная оценка степени поражения всех органов и систем у новорожденного с асфиксией позволяет определить вероятное время возникновения гипоксического события.
3. Определено, что после гипоксического события на ante/интранатальном этапах, ход асфиксии может происходить по 4-м клиническим сценариями (рис.5.4).
4. Усовершенствованный алгоритм наблюдения за детьми с вероятными или имеющимися гипоксическими событиями. При наличии у ребенка не менее одной из ниже указанных признаков: сентинельном событии, оценки ниже 7 баллов на 5 минуте жизни, рН пуповинной крови менее 7,25, применение ИВЛ при реанимации, целесообразно дополнительно с рекомендациями, изложенными в Приказе МЗ №225 от 2014 года «Унифицированный клинический протокол «Начальная, реанимационная и послереанимационная помощь новорожденным в Украине», назначать следующие исследования: общий анализ крови, глюкозу, креатинин, мочевины в сыворотке крови в акушерских стационарах II уровня, и дополнительно к указанным выше  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче и полиморфизм генов *ACE*, *AGT2R1* и *eNOS* - в акушерских стационарах III уровня.

## ВЫВОДЫ

В монографии представлено новое решение актуальной задачи современной педиатрии, а именно: совершенствование алгоритма наблюдения за новорожденными с асфиксией в течение раннего неонатального периода путем идентификации анамнестических, клинико-метаболических и генетических предикторов развития органических дисфункций. В частности:

1. Определено, что среди новорожденных, которые были оценены 4-6 баллами на 5 минуте жизни по шкале Апгар, так и среди новорожденных с оценкой 0-3 баллов, довольно часто оказываются дисфункции витальных (мозг, соответственно, в 20% и 56,8 % детей [ $p = 0,001$ ], сердце в 17,1% и 18,9% детей [ $p = 0,845$ ]) и невитальных (почки в 11,4% и 43,2% детей [ $p = 0,003$ ], легкие в 54,3% и 89,2% детей [ $p = 0,001$ ], ЖКТ / печень в 22,9% и 56,8% детей [ $p = 0,003$ ]) органов.

2. Доказана роль генов ренин-ангиотензиновой системы в развитии асфиксии, в частности показано, что доминантная модель (aa + ba vs. bb) гена *eNOS* (ОШ 2,67,  $p = 0,044$ ) достоверно повышает шансы ребенка иметь асфиксию, при достоверном влиянии рецессивной модели (DD vs. ИИ + ID) *ACE* гена на тяжелое течение асфиксии (ОШ 2,77  $p = 0,05$ ).

3. Установлено, что прогностическая модель развития гипоксически-ишемической энцефалопатии, которая включает слабость родовой деятельности (ОШ 13,2;  $p = 0,018$ ), введение физиологического раствора во время первичных реанимационных мероприятий (ОШ 9,2;  $p = 0,028$ ), уровень ЛДГ > 1700 ед / л (ОШ 7,4;  $p = 0,056$ ) и креатинина > 110 ммоль / л (ОШ 15,9;  $p = 0,037$ ) в 1-е сутки жизни имеет умеренную чувствительность (61,11%) и высокие специфичность (96,0%), положительное предиктивное значение (91,67%), отрицательное предиктивное значение (77,42%) и площадь под ROC кривой (0,8711). Уровень креатинина как маркер ацидемии плода у новорожденных с асфиксией в 1-е сутки жизни достоверно ассоциируется с C / A + CC моделью гена *AGT2R1* (ОШ 1,02,  $p = 0,018$ ), что свидетельствует о

генетически обусловленной восприимчивости этих детей к ante / интранатальному гипоксическому / асфиксическому событию.

4. Определено, что на развитие дисфункции миокарда влияет уровень глюкозы меньше 3,3 ммоль / л (ОШ 11,6;  $p = 0,055$ ), мочевины  $> 7,0$  ммоль / л (ОШ 21,3;  $p = 0,040$ ) и генетически детерминированный уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- < 21$  мкмоль / л в моче (ОШ 15,2;  $p = 0,006$ ), что подтверждается достоверным связью последнего с доминантной моделью (aa + ab vs. bb) *eNOS* гена и доминантной моделью (CC + AC vs. AA) *AGT2R1* гена, и свидетельствует о генетической детерминированности циркуляторных механизмов адаптации плода / ребенка к гипоксическому / асфиксическому событию. Операционные характеристики прогностической модели развития дисфункции миокарда высоки - площадь под ROC кривой составляет 0,8368.

5. Доказано, что младенцы с доминантной моделью (CC + CA vs. AA) *AGT2R1* гена имеют повышенный риск развития острого повреждения почек (ОШ 4,39,  $p = 0,054$ ), а младенцы с рецессивной моделью (bb vs. ab + aa) *eNOS* гена - повышенный риск развития дисфункции ЖКТ / печени (ОШ 3,99;  $p = 0,037$ ). Прогностические модели развития поражений этих органов, в частности острого повреждения почек (CC + AC модель *AGT2R1* гена, оценка по шкале Апгар менее 4 баллов на 5 минуте жизни, мекониальная аспирация), дисфункции ЖКТ (оценка по шкале Апгар менее 5 баллов на 5 мин., введение 4% раствора гидрокарбоната натрия во время проведения реанимационных мероприятий, уровень глюкозы меньше 3,3 ммоль / л, мочевины меньше 6,0 ммоль/л, рецессивная модель *eNOS* гена) и дыхательных расстройств (оценка по шкале Апгар меньше 5 баллов на 5 мин. и суточный объем жидкости на 1 сутки жизни в расчете на кг веса), имеют высокие операционные характеристики - соответствующие площади под ROC кривыми составляют 0,8054; 0,8424 и 0,8223.

6. Обосновано интегрированную модель предикции развития органных дисфункций и алгоритм наблюдения за новорожденными, которые оценены менее 7 баллов на 5 минуте жизни, с целью стратификации детей,

подлежащих проведению лечебной гипотермии, и предупреждения развития у них ранних и отдаленных неблагоприятных последствий.



## Практические рекомендации

1. Для диагностики органических дисфункций у новорожденных с асфиксией на ранних стадиях и своевременного назначения корректирующей терапии использовать валидную клиническую прогностическую модель, которая включает факторы риска, в частности:

- для прогнозирования гипоксически-ишемической энцефалопатии - слабость во время родов, уровень креатинина более 110 мкмоль / л и уровень ЛДГ более 1700 ед / л,

- для прогнозирования дисфункции миокарда - уровень глюкозы крови менее 3,3 ммоль / л, уровень  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в моче менее 21 мкмоль / л и уровень мочевины сыворотки крови выше 7,0 ммоль / л в 1 сутки жизни,

- для прогнозирования острого повреждения почек - синдром мекониальной аспирации, оценку по шкале Апгар менее 5 баллов на 5 минуте жизни, уровень креатинина сыворотки крови более 110 мкмоль / л в 1 сутки жизни,

- для прогнозирования дисфункции ЖКТ - оценку по шкале Апгар менее 5 баллов на 5 мин., введение 4% раствора гидрокарбоната натрия во время проведения реанимационных мероприятий, уровень глюкозы менее 3,3 ммоль / л, мочевины менее 6,0 ммоль / л в сыворотке крови, рецессивная модель *eNOS* гена.

2. Для предупреждения развития у новорожденных с асфиксией ранних и отдаленных неблагоприятных последствий предложен алгоритм наблюдения за новорожденными с вероятным или имеющимся гипоксическим событием. При наличии у ребенка не менее одного из ниже указанных признаков: сентинельного события, оценки ниже <7 баллов на 5 мин. жизни, рН пуповинной крови <7,25 или применения ИВЛ во время реанимации, целесообразно как можно раньше назначать следующие исследования: в акушерских стационарах II уровня - общий анализ крови, глюкозу, креатинин, мочевину, ЛДГ, и в акушерских стационарах III уровня

дополнительно к указанному выше - оксид азота в моче и полиморфизм генов *ACE*, *AGT2R1* и *eNOS*.

3. Для назначения медикаментозной терапии новорожденным с асфиксией использовать такой диагностический алгоритм по определению противопоказаний для назначения нефротоксических препаратов, который способствует снижению необоснованного их назначения, и предотвращает ухудшение ранних и отдаленных результатов лечения:

- основные критерии - оценка по шкале Апгар менее 7 баллов на 5 минуте жизни, уровень креатинина более 110 мкмоль / л в 1 сутки жизни;

- дополнительные критерии - мекониальная аспирация во время родов и генотип AC + CC гена *AGT2R1*.

4. Введение генетического обследования новорожденных с асфиксией с целью установления у них полиморфизма генов *AGT2R1*, *ACE* и *eNOS* позволит определять группу риска детей по развитию органических дисфункций при асфиксии и индивидуально подходить к назначению корректирующей терапии.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Every Newborn: an action plan to end preventable deaths. [Электронный ресурс].  
[http://www.who.int/maternal\\_child\\_adolescent/topics/newborn/enap\\_consultation/en/](http://www.who.int/maternal_child_adolescent/topics/newborn/enap_consultation/en/) – Назва з экрана
2. Setting research priorities to reduce almost one million deaths from birth asphyxia by 2015 / J.E. Lawn, R. Bahl, S. Bergstrom [et al.] // *PLoS Med.* 2011. – Vol. 8, issue 1. – P.1-11.
3. Short and long term prognosis in perinatal asphyxia: An update / C.E. Ahearn, G.B. Boylan, D.M. Murray // *World J. Clin. Pediatr.* – 2016. – Vol. 8; No 5(1). – P. 67-74.
4. Cardiovascular Alterations and Multiorgan Dysfunction After Birth Asphyxia / G.R. Polglase, T. Ong, N.H. Hillman // *Clinics in Perinatology.* – 2016. – Vol. 43, Issue 3. – P. 469–483.
5. Role of thrombophilic factors in full-term infants with neonatal encephalopathy / J.C. Harteman, F. Groenendaal, M.J. Benders [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2013. – Vol. 73 (1). – P. 80–86.
6. The placenta in infants >36 weeks gestation with neonatal encephalopathy: a case control study / B.C. Hayes, S. Cooley, J. Donnelly [et al.] // *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed.* – 2013. – Vol. 98(3). - F233–F239.
7. Inflammatory Biomarkers of Birth Asphyxia / L.F. Chalak // *Clinics in Perinatology.* – 2016. – Vol. 43, Issue 3. – P. 501-510.
8. Association between renin-angiotensin system gene polymorphism and recurrent wheezing in Chinese children: a 4-year follow-up study. / S.Guo, J.N.Zhang, Y.D.Yan [et al.] // *J. Int. Med. Res.* – 2009. – Vol. 37, № 2. – P.351-358.
9. Анализ ассоциаций между полиморфизмом гена ангиотензин-превращающего фермента и развитием артериальной гипотензии у преждевременно рожденных детей с бактериальными инфекциями раннего неонатального периода / Е.М. Ковалева, В.И. Похилько, Ю.И.

- Чернявская [и др.] // Медицинские новости Грузии. Ежемесячный научный журнал. – 2015. – № 11 (248). – С. 60-68.
10. Impact of common functional polymorphisms in renin angiotensin system genes on the risk of renal parenchymal scarring following childhood urinary tract infection / A. Hussein, A.A. Elderwy, E. Askar [et al.] // *J. Pediatr. Urol.* – 2015. – Vol. 152. – P. e1-7.
  11. The role of genetic polymorphisms of the Renin-Angiotensin System in renal diseases: A meta-analysis / G.G. Braliou, A.M. Grigoriadou, P.I. Kontou [et al.] // *Comput. Struct. Biotechnol. J.* – 2014. – Vol. 10(16). – P. 1-7.
  12. Epistatic interaction between common AGT G(-6)A (rs5051) and AGTR1 A1166C (rs5186) variants contributes to variation in kidney size at birth / M. Kaczmarczyk, A. Kuprjanowicz, B. Łoniewska [et al.] // *Gene.* – 2015. – Vol. 572(1). – P. 72-78.
  13. WHO Releases Guidelines for Reducing Maternal, Newborn Deaths. [Електронний ресурс] <http://www.medscape.com/viewarticle/855582> – Назва з екрана.
  14. Part 15: neonatal resuscitation: 2010 American Heart Association guidelines for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care / J. Kattwinkel, J.M. Perlman, K. Aziz [et al.] // *Circulation.* – 2010. – V.122, S.3. – P.S909-S919.
  15. Rainaldi A.M. Pathophysiology of Birth Asphyxia / A.M. Rainaldi, J.M. Perlman // *Clinics in Perinatology.* – 2016. – Vol. 43, Issue 3. – P. 409-422.
  16. Decreasing Diagnoses of Birth Asphyxia in Canada: Fact or Artifact / S.Dzakpasu, K. S. Joseph, Ling Huang, for the Fetal and Infant Health Study Group of the Canadian Perinatal Surveillance System // *Pediatrics.* – 2009. – Vol. 123, No. 4. – P. e668 -e672.
  17. Про затвердження клінічного Протоколу з первинної реанімації та післяреанімаційної допомоги новонародженим. «Наказ № 312 МОЗ

- України від 8.06.2007 року». – К., 2007. – 54 с. – (Нормативные директивные правовые документы).
18. Унифіцированный клінічний протокол «Початкова, реанімаційна і післяреанімаційна допомога новонародженим в Україні». «Наказ № 225 МОЗ України від 28.03.2014 року». – К., 2014. – 78 с. – (Нормативные директивные правовые документы).
  19. Blood Biomarkers for Evaluation of Perinatal Encephalopathy / E.M. Graham, I. Burd, A.D. Everett [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 7. – P. 196.
  20. A comparison of morbidity rates attributable to conditions originating in the perinatal period among newborns discharged from United States hospitals, 1989–90 and 1999–2000 / K.M. Tomashek, C.J. Crouse, S. Iyasu [et al.] // *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* – 2006. – Vol. 20, No. 1. – P. 24–34.
  21. Hull J. Falling incidence of hypoxic-ischaemic encephalopathy in term infants / J. Hull, K.L. Dodd // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 1992. – Vol. 99, No. 5. – P. 386–391.
  22. Birth asphyxia: incidence, clinical course and outcome in a Swedish population / E. Thornberg, K. Thiringer, A. Odeback [et al.] // *Acta Paediatr.* – 1995. – Vol. 84, No. 8. – P. 927–932.
  23. Надання медичної допомоги новонародженим у закладах охорони здоров'я, що перебувають у сфері управління МОЗ України / Аналітично-статистичний довідник за 2007 – 2008 роки. – К., 2009. – 46 с. – (Нормативный документ МОЗ Украины, центр медицинской статистики).
  24. Two million intrapartum stillbirths and neonatal deaths: where, why, and what can we do? / J.E. Lawn, A.C. Lee, M. Kinney [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2009. – Vol. 107. – S5–S19.
  25. Reducing intrapartum-related deaths and disability: can the health system deliver? J.E. Lawn, A.C. Lee, M. Kinney [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2009. – Vol. 107. – S123–S142.

26. Iawn J.E. 4 Million Deaths. When? Where? Why? / J. E. Iawn, S.Cousens, J. Zupan // *Lancet*. – 2005. – Vol. 365 (9462). – P. 891-900.
27. Placental pathology is associated with severity of neonatal encephalopathy and adverse developmental outcomes following hypothermia / I.N. Mir, S.F. Johnson-Welch, D.B. elson [et al.]. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol. 213. – P. 849.e1-7.
28. Volpe J.J. Neonatal encephalopathy: an inadequate term for hypoxic-ischemic encephalopathy / J.J. Volpe // *Ann Neurol*. – 2012. – Vol. 72 (2). – P. 156–166.
29. Leviton A. Why the term neonatal encephalopathy should be preferred over neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy / A. Leviton // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 208(3). – P. 176–180.
30. Schendel D. Neonatal encephalopathy or hypoxic-ischemic encephalopathy? / D. Schendel, K.B. Nelson, E.Blair // *Ann. Neurol.* – 2012. – Vol. 72 (6). – P. 984–985.
31. Antenatal antecedents of moderate or severe neonatal encephalopathy in term infants—a regional review / C.R. West, L. Curr, M.R. Battin [et al.] // *Aust. N. Z J. Obstet. Gynaecol.* – 2005. – Vol. 45(3). – P. 207–210.
32. Antepartum and intrapartum risk factors for neonatal encephalopathy at term / A. Locatelli, M. Incerti, G. Paterlini [et al.] // *Am. J. Perinatol.* – 2010. – Vol. 27 (8). – P. 649–654.
33. Trends, risk factors and pregnancy outcome in women with uterine rupture / D. Ronel, A. Wiznitzer, R. Sergienko [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2012. – Vol. 285 (2). – P. 317-321.
34. Evidence-based, cost-effective interventions: how many newborn babies can we save? / G.L. Darmstadt, Z.A. Bhutta, S. Cousens [et al.] // *Lancet*. – 2005. – Vol. 365(9463). – P. 977-988.
35. Antepartum and Intrapartum Factors Preceding Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy / M. Martinez-Biarge, J. Diez-Sebastian, C.J. Wusthoff [et al.] // *Pediatrics*. – 2013. – Vol. 132, Issue 4. – P. 952-960.

36. The mechanisms and treatment of asphyxial encephalopathy / G. Wassink, E.R. Gunn, P.P. Drury [et al.] // *Front Neurosci.* – 2014. – Vol. 8. – P.40.
37. A systematic review of the role of intrapartum hypoxia-ischemia in the causation of neonatal encephalopathy / E.M. Graham, K.A. Ruis, A.L. Hartman [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2008. – Vol. 199(6). – P. 587–595.
38. Influence of maternal, obstetric and fetal risk factors on the prevalence of birth asphyxia at term in a Swedish urban population / I. Milsom, L. Ladfors, K. Thiringer [et al.] // *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* – 2002. – Vol. 81 (10). – P. 909–917.
39. Risk factors for severe neonatal acidosis / E. Maisonneuve, F. Audibert, L. Guilbaud [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 118 (4). – P. 818–823.
40. A confidential enquiry into cases of neonatal encephalopathy / E.S. Draper, J.J. Kurinczuk, C.R. Lamming [et al.] // *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal Ed.* – 2002. – Vol. 87 (3). – P. F176–F180.
41. Severe asphyxia due to delivery-related malpractice in Sweden 1990-2005 / S. Berglund, C. Grunewald, H. Pettersson [et al.] // *BJOG.* – 2008. – Vol. 115 (3). – P. 316–323.
42. Reducing risk by improving standards of intrapartum fetal care / P. Young, R. Hamilton, S. Hodgett [et al.] // *J. R. Soc. Med.* – 2001. – Vol. 94 (5). – P. 226–231.
43. Does training in obstetric emergencies improve neonatal outcome? / T. Draycott, T. Sibanda, L. Owen [et al.] // *BJOG.* – 2006. – Vol. 113 (2). – P. 177–182.
44. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis / R.E. Black, S. Cousens, H.L. Johnson [et al.] // *Lancet.* – 2010. – Vol. 375(9730). – P. 1969–1987.
45. Шабалов Н. П. Основы перинатологии / Н. П. Шабалов, Ю. В. Цвелева. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 633 с.

46. Li H. Clinical significance of uterine artery blood flow velocity waveforms during provoked uterine contractions in high-risk pregnancy / H. Li, S. Gudmundsson, P.Olofsson // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 24. – P. 429-434.
47. Umbilical artery Doppler velocimetry as a labor admission test / P. Marcus, S. Gudmundsson, K. Marsal [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 1991. – Vol. 77. – P. 10-16.
48. Morton S.U. Fetal Physiology and the Transition to Extrauterine Life / S.U. Morton, D. Brodsky // *Clinics in Perinatology.* – 2016. – Vol. 43, Issue 3. – P. 395-407.
49. Jensen A. Dynamics of fetal circulatory responses to hypoxia and asphyxia / A. Jensen, Y. Garnier, R. Berger // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1999. – Vol. 84. – P. 155-172.
50. Koehler R.C. Cerebral circulatory response to carbon monoxide and hypoxic hypoxia in the lamb / R.C. Koehler, M. Jones, R.J. Traystman // *Am. J. Physiol.* – 1982. – Vol. 243. – P. H27-H32.
51. Ashwal S. Regional cerebral blood flow: studies in the fetal lamb during hypoxia, hypercapnia, addosis, and hypotension / S. Ashwal, P.S. Dale, L.D. Longo // *Pediatr. Res.* – 1984. – Vol. 18. – P. 1309-1316.
52. Multiorgan dysfunction in infants with post-asphyxial hypoxic-ischaemic encephalopathy / P. Shah, S. Riphagen, J. Beyene [et al.] // *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed.* – 2004. – Vol. 89. – P. F152-F155.
53. Vannucci R.C. Glucose, lactic acid, and perinatal hypoxic-ischemic brain damage / R.C. Vannucci, J.Y. Yager // *Pediatr. Neurol.* – 1992. – Vol. 8. – P. 3-12.
54. Effect of insulin-induced and fasting hypoglycemia on perinatal hypoxic-ischemic brain damage / J.Y. Yager, D.F. Heitjan, J. Towfighi [et al.] // *Pediatr. Res.* – 1992. – Vol. 31. – P. 138-142.



55. Dawes G. The importance of cardiac glycogen for the maintenance of life in foetal lambs and new-born animals during anoxia / G. Dawes, J.C. Mott, H.J. Shelley // *J. Physiol.* – 1959. – Vol. 146. – P. 516-538.
56. Oski F.A.: The unique fetal red cell and its function. / F.A. Oski // *Pediatrics.* – 1973. – Vol. 51. – P. 494-500.
57. Fetal Physiology and the Transition to Extrauterine Life / U. Sarah, M.D. Morton // *Clinics in Perinatology* – 2016. – Vol. 43, Issue 3. – P. 395-407.
58. Thorp J.A. Umbilical cord blood gas analysis / J.A. Thorp, R.S. Rushing // *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.* – 1999. – Vol. 26. – P. 695-709.
59. Pathologic fetal acidemia / K. Goldaber, L. Gilstrap, K. Leveno [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 1991. – Vol. 78. – P. 1103-1107.
60. Predictive factors for neonatal morbidity in neonates with an umbilical arterial cord pH less than 7.00 / H.M. Sehdev, D.M. Stamilio, G.A. Macones [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1997. – Vol. 177. – P. 1030-1034.
61. The effect of profound umbilical artery acidemia in term neonates admitted to a newborn nursery / T.A. King, G.L. Jackson, A.S. Josey [et al.] // *J. Pediatr.* – 1998. – Vol. 132. – P. 624-629.
62. Severe fetal acidemia: neonatal neurologic features and short-term outcome / J.M. Perlman, R. Risser // *Pediatr. Neurol.* – 1993. – Vol. 9. – P. 277-282.
63. Asphyxial complications in the term newborn with severe umbilical acidemia / T.M. Goodwin, I. Belai, P. Hernandez [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1992. – Vol. 167. – P. 1506-1512.
64. Neuronal cell death in neonatal hypoxia-ischemia / F.J. Northington, R. Chavez-Valdez, L.J. Martin // *Ann. Neurol.* – 2011. – Vol. 69. – P. 743-758.
65. Neuroprotective strategies after neonatal hypoxic ischemic encephalopathy / B.J. Dixon, C. Reis, W.M. Ho [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16. – P. 22368-22401.
66. Calvert J.W. Pathophysiology of an hypoxic–ischemic insult during the perinatal period // J.W. Calvert, J.H. Zhang // *Neurol. Res.* – 2005. – Vol. 27. – P. 246-260.

67. A redox-based mechanisms for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds / S. A. Lipton, Y-H. Chol, Z-H. Pan [et al.] // *Nature*. – 1993. – Vol. 364, № 12. – P. 626–632.
68. Nicotera P. Mechanisms for nitric oxide-induced cell death : Involvement of apoptosis / P. Nicotera, E. Bonfoco, B. Brune // *Advances in Neuroimmunology* – 1995. – Vol. 5, № 4. – P. 411–420.
69. Ziebell J.M. Involvement of pro- and anti-inflammatory cytokines and chemokines in the pathophysiology of traumatic brain injury / J.M. Ziebell, M.C. Morganti-Kossmann // *Neurotherapeutics*. – 2010. – Vol. 7. – P. 22–30.
70. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration / C.K. Glass, K. Saijo, B. Winner [et al.] // *Cell*. – 2010. – Vol. 140. – P. 918–934.
71. Neurochemokines: a ménage a trois providing new insights on the functions of chemokines in the central nervous system / W. Rostene, M.A. Dansereau D. Godefroy [et al.] // *J. Neurochem*. – 2011. – Vol. 118 (5) . – P.680-694.
72. Damman O. Cytokines and perinatal brain damage / O. Damman, T.M. O'Shea // *Clin. Perinatol*. – 2008. – Vol. 35 (4) – P.643-663.
73. Intrauterine inflammation, insufficient to induce parturition, still evokes fetal and neonatal brain injury / M.A. Elovitz, A.G. Brown, K. Breen [et al.] // *Int. J. Dev. Neurosci*. – 2011. – Vol. 29 (6). – P.663-671.
74. Malaeb S. Fetal inflammatory response and brain injury in the preterm newborn / S. Malaeb, O. Dammann // *J. Child Neurol*. – 2009. – Vol. 24 (9). – P. 1119-1126.
75. Neonatal cytokines and coagulation factors in children with cerebral palsy / K.B. Nelson, J.M. Dambrosia, J.K. Grether [et al.] // *Ann. Neurol*. – 1998. – Vol. 44. – P. 665-675.
76. Clinical chorioamnionitis, elevated cytokines, and brain injury in term infants / L.F. Shalak, A.R. Laptook, H.S. Jafri [et al.] // *Pediatrics*. – 2002. – Vol. 110. – P. 673-680.

77. The relationship of CSF and plasma cytokine levels to cerebral white matter injury in the premature newborn / V. J. Ellison, T. J. Mocatta, C.C. Winterbourn [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2005. – Vol.57 (2). – P. 282-286.
78. Volpe J.J. Cerebral white matter injury of the premature infant-more common than you think / J.J. Volpe // *Pediatrics.* – 2003. – Vol. 112. – P. 176-80.
79. Cytokine response in cerebrospinal fluid after birth asphyxia / K. Savman, M. Blennow, K. Gustafson [et al.] // *Pediatr. Res.* – 1998. – Vol. 43 (6). – P. 746-751.
80. Umbilical cord interleukin-6 levels are elevated in term neonates with perinatal asphyxia / C. Chiesa, G. Pellegrini, A. Panero [et al.] // *Eur. J.Clin. Invest.* – 2003. – Vol. 33 (4). – P. 352-358.
81. Neonatal encephalopathy: association of cytokines with MR spectroscopy and outcome / A.I. Bartha, A. Foster-Barber, S.P. Miller [et al.] // *Pediatr. Res* 2004. – Vol. 56 (6). – P. 960-966.
82. IL-1beta, IL-6 and TNF-alpha and outcomes of neonatal hypoxic ischemic encephalopathy / H. Aly, M.T. Khashaba, M. El-Ayouty [et al.] // *Brain. Dev.* – 2006. – Vol. 28. – P. 178–182.
83. McAdams R.M. The role of cytokines and inflammatory cells in perinatal brain injury / R.M. McAdams, S.E. Juul // *Neurol. Res. Int.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 561494.
84. Abbott N.J. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier / N.J. Abbott, L. Ronnback, E.Hansson // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2006. – Vol. 7. – P. 41-53.
85. Minocycline: a neuroprotective agent for hypoxic-ischemic brain injury in the neonate? / K.M. Buller, M.L. Carty, H.E. Reinebrant [et al.] // *J. Neurosci Res.* – 2009. – Vol. 87. – P. 599–608.
86. Deng W. Neurobiology of injury to the developing brain / W. Deng // *Nat. Rev. Neurol.* – 2010. – Vol. 6. – P. 328–336.

87. Interleukin-1 regulates proliferation and differentiation of oligodendrocyte progenitor cells / J.M. Vela, E. Molina-Holgado, A. Arevalo-Martin [et al.] // *Mol. Cell. Neurosci.* – 2002. – Vol. 20. – P. 489-502.
88. Leviton A. Problems with definitions and classifications of newborn encephalopathy / A. Leviton, K.B. Nelson // *Pediatr. Neurol.* – 1992. – Vol. 8. – P. 85–90.
89. Sarnat H.B. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study / H.B. Sarnat, M.S. Sarnat // *Arch. Neurol.* – 1976. – Vol. 33. – P. 696–705.
90. Dammann O. Neonatal encephalopathy or hypoxic-ischemic encephalopathy? Appropriate terminology matters / O. Dammann, D. Ferriero, P. Gressens // *Pediatr. Res.* – 2011. – Vol. 70. – P. 1–2.
91. Chorioamnionitis and neonatal encephalopathy in term infants with fetal acidemia: histopathologic correlations / L. Shalak, S. Johnson-Welch, J.M. Perlman // *Pediatr. Neurol.* – 2005. – Vol. 33 (3). – P. 162-165.
92. Serial cytokine alterations and abnormal neuroimaging in newborn infants with encephalopathy / F.M. O'Hare, R.W. Watson, A. O'Neill [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2017. – [Электронный ресурс] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28097694> – Название с экрана
93. Wu Y.W. Chorioamnionitis as a risk factor for cerebral palsy: a meta-analysis / Y.W. Wu, J.M. Colford // *JAMA.* – 2000. – Vol. 284. – P. 1417-1424.
94. Lipopolysaccharide induces both a primary and a secondary phase of sensitization in the developing rat brain / S. Eklind, C. Mallard, P. Arvidsson [et al.] // *Pediatr Res.* – 2005. – Vol. 58. – P. 112-116.
95. Hypothermia is not neuroprotective after infection-sensitized neonatal hypoxic-ischemic brain injury / D. Osredkar, M. Thoresen, E. Maes [et al.] // *Resuscitation.* – 2014. – Vol. 85. – P. 567-572.

96. Maternal or neonatal infection: association with neonatal encephalopathy outcomes / M. Jenster, S.L. Bonifacio, T. Ruel [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2014. – Vol. 76. – P. 93-99.
97. Ferriero D.M. Neonatal brain injury / D.M. Ferriero // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 351. – P. 1985-1995.
98. Ferriero D.M. The search continues for the elusive biomarkers of neonatal brain injury / D.M. Ferriero, S.L. Bonifacio // *J. Pediatr.* – 2014. – Vol. 164. – P. 438-440.
99. Whole-body hypothermia for term and near-term newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy: a randomized controlled trial / S.E. Jacobs, C.J. Morley, T.E. Inder [et al.] // *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* – 2011. – Vol. 165. – P. 692-700.
100. Selective head cooling with mild systemic hypothermia after neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy: a multicenter randomized controlled trial in China / W.H. Zhou, G.Q. Cheng, X.M. Shao [et al.] // *J. Pediatr.* – 2010. – Vol. 157. – P. 367-372.
101. Systemic hypothermia after neonatal encephalopathy: outcomes of neo.nEURO.network RCT / G. Simbruner, R.A. Mittal, F. Rohlmann [et al.] // *Pediatrics.* – 2010. – Vol. 126. – P. e771-e778.
102. Effect of hypothermia on amplitude-integrated electroencephalogram in infants with asphyxia / M. Thoresen, L. Hellstrom-Westas, X. Liu [et al.] // *Pediatrics.* – 2010. – Vol. 126. – P. e131-e139.
103. Cerebral magnetic resonance biomarkers in neonatal encephalopathy: a meta-analysis / S. Thayyil, M. Chandrasekaran, A. Taylor [et al.] // *Pediatrics.* – 2010. – Vol. 125. – P. e382-e395.
104. Assessment of brain tissue injury after moderate hypothermia in neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy: a nested substudy of a randomised controlled trial / M. Rutherford, L.A. Ramenghi, A.D. Edwards [et al.] // *Lancet. Neurol.* – 2010. – Vol. 9. – P. 39-45.

105. Hypothermia and other treatment options for neonatal encephalopathy: an executive summary of the Eunice Kennedy Shriver NICHD workshop / R.D. Higgins, T. Raju, A.D. Edwards [et al.] // *J. Pediatr.* – 2011. – Vol. 159. – P. 851-858.
106. Kratzer I. Barrier mechanisms in neonatal stroke / I. Kratzer, S. Chip, Z.S. Vexler // *Front. Neurosci.* – 2014. – Vol. 8. – P. 359.
107. Juul S.E. Pharmacologic neuroprotective strategies in neonatal brain injury / S.E. Juul, D.M. Ferriero / *Clin. Perinatol.* – 2014. – Vol. 41. – P. 119-131.
108. Childhood outcomes after hypothermia for neonatal encephalopathy / S. Shankaran, A. Pappas, S.A. McDonald [et al.] // *N. Engl. J Med.* – 2012. – Vol. 366. – P. 2085-2092.
109. Clinical analysis of B-type natriuretic peptide (BNP) in different degrees of asphyxiated newborns with myocardial injury / Z. Bao, J. Wan, L. Ling // *J. Clin. Pulm. Med.* – 2013. – Vol. 18. – P. 675.
110. Electrocardiographic and echocardiographic changes in perinatal asphyxia / P.S. Rajakumar, B.B. Vishnu, M.G. Sridhar [et al.] // *Indian. J. Pediatr.* – 2009. – Vol. 76. – P. 261.
111. Persistence of atrioventricular valve regurgitation and electrocardiographic abnormalities following transient myocardial ischemia of the newborn / S.O. Turner-Gomes, T. Izukawa, R.D. Rowe // *Pediatr. Cardiol.* – 1989. – Vol. 10. – P. 191-194.
112. Circulatory responses to asphyxia differ if the asphyxia occurs in utero or ex utero in near-term lambs / K.S. Sobotka, C. Morley, T. Ong [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. – P. e112264.
113. Effects of heart rate on ventricular size, stroke volume, and output in the normal human fetus: a prospective Doppler echocardiographic study / J. Kenny, T. Plappert, P. Doubilet [et al.] // *Circulation.* – 1987. – Vol. 76. – P. 52-58.

114. Gilbert R.D. Control of fetal cardiac output during changes in blood volume / R.D. Gilbert // *Am. J. Physiol.* – 1980. – Vol. 238. – P. H80-H86.
115. Rudolph A.M. Fetal and neonatal circulation and respiration / A.M. Rudolph, M. Heyman // *Annu. Rev. Physiol.* – 1974. – Vol. 36. – P. 187-207.
116. Friedman W.F. The intrinsic physiologic properties of the developing heart / W.F. Friedman // *Prog. Cardiovasc. Dis.* – 1972. – Vol. 15. – P. 87-111.
117. Frank-Starling relationship as an important determinant of fetal cardiac output / S.E. Kirkpatrick, P.T. Pitlick, J. Naliboff [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1976. – Vol. 231. – P. 495-500.
118. The effect of heart rate on in utero left ventricular output in the fetal sheep / P. Anderson, K.L. Glick, A.P. Killam [et al.] // *J. Physiol.* – 1986. – Vol. 372. – P. 557-573.
119. Van Bel F. Myocardial dysfunction and cerebral blood flow velocity following birth asphyxia / F. Van Bel, F.J. Walther // *Acta. Paediatr. Scand.* – 1990. – Vol. 79. – P. 756-762.
120. Walther F.J. Cardiac output in newborn infants with transient myocardial dysfunction / F.J. Walther, B. Siassi, N.A. Ramadan [et al.] // *J. Pediatr.* – 1985. – Vol. 107. – P. 781-785.
121. Sehgal A. Reduced cardiac output and its correlation with coronary blood flow and troponin in asphyxiated infants treated with therapeutic hypothermia / A. Sehgal, F. Wong, S. Mehta // *Eur. J. Pediatr.* – 2012. – Vol. 171. – P. 1511-1517.
122. Is serum troponin T a useful marker of myocardial damage in newborn infants with perinatal asphyxia? / S. Costa, E. Zecca, G. De Rosa [et al.] // *Acta. Paediatr.* – 2007. – Vol. 96. – P. 181-184.
123. Left ventricular systolic function of newborns with asphyxia evaluated by tissue Doppler imaging / Y. Wei, J. Xu, T. Xu [et al.] // *Pediatr. Cardiol.* – 2009. – Vol. 30. – P. 741-746.

124. Cardiac troponin T in cord blood / S. Clark, P. Newland, C.W. Yoxall [et al.] // Arch. Dis. Child Fetal. Neonatal Ed. – 2001. – Vol. 84. – P. F34-F37.
125. Serial electrocardiographic changes in healthy and stressed neonates / R.Jedeikin, A.Primhak, A.T. Shennan [et al.] // Arch. Dis. Child. – 1983. – Vol. 58. – P.605-611.
126. Zhua R. A Clinical Study of the N-Terminal pro-Brain Natriuretic Peptide in Myocardial Injury after Neonatal Asphyxia / R. Zhua, Z. Nie // Pediatrics and Neonatology. – 2015. – Vol. 1. – 1-7.
127. Value of myocardial hypoxia markers creatine kinase and its MB-fraction, troponin-T, QT-intervals and serum creatinine for the retrospective diagnosis of perinatal asphyxia / J.C. Moller, B. Thielsen, T.F. Schaible [et al.] // Biol. Neonate. – 1998. – Vol. 73. – P. 367-374.
128. Markers of myocardial damage in children of the first year of life with congenital heart disease in the early period after surgery with cardioplegic anoxia / E.F. Kozar, M.G. Plyushch, A.E. Popov [et al.] // Bull. Exp. Biol. Med. – 2015. – Vol.158(4). – P. 421-424.
129. Development of heart failure and congenital septal defects in mice lacking endothelial nitric oxide synthase / Q. Feng, W. Song, X. Lu [et al.] // Circulation. – 2002. – Vol. 106. – P. 873-879.
130. Nitric oxide synthase expression and role during cardiomyogenesis / W. Bloch, B.K. Fleischmann, D.E. Lorke [et al.] // Cardiovasc. Res. – 1999. – Vol. 43. – P. 675-684.
131. Acute kidney injury in asphyxiated newborns treated with therapeutic hypothermia / D.T. Selewski, B.K. Jordan, D.J. Askenazi [et al.] // J Pediatr. – 2013. – Vol. 162(4). P. 725-729
132. Effects of therapeutic hypothermia on multiorgan dysfunction in asphyxiated newborns: whole-body cooling versus selective head cooling / S. Sarkar, J.D. Barks, I. Bhagat [et al.] // J. Perinatol. – 2009. – Vol. 29. – P. 558-563.



133. Whole-body hypothermia for neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy / S. Shankaran, A.R. Laptook, R.A. Ehrenkranz [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353. – P. 1574-1584.
134. Evaluation of glomerular and tubular renal function in neonates with birth asphyxia / S. Kaur, S. Jain, A. Saha [et al.] // *Ann. Trop. Paediatr.* – 2011. – Vol. 31 (2). – P. 129-134.
135. Durkan A.M. Acute kidney injury post neonatal asphyxia / A.M. Durkan, R.T. Alexander // *J. Pediatr.* – 2011. – Vol. 158. – P. e29-e33.
136. Neonatal acute kidney injury / D.T. Selewski, J.R. Charlton, J.G. Jetton [et al.] // *Pediatrics.* – 2015. – Vol. 136. – P. e463-e464.
137. Karlowicz M.G. Nonoliguric and oligouric acute renal failure in asphyxiated term neonates / M.G. Karlowicz, R.D. Adelman // *Pediatr. Nephrol.* – 1995. – Vol. 9 (6). – P. 718-722.
138. Acute renal failure in the neonatal period / P.I. Apgars, A. Tarcan, E. Baskin [et al.] // *Ren. Fail.* – 2004. – Vol. 26 (3). – P. 305-309.
139. Acute kidney injury in critical ill newborns: what do we know? What do we need to learn? / D.J. Askenazi, N. Ambalavanan, S.L. Goldstein [et al.] // *Pediatr. Nephrol.* – 2009. – Vol. 24 (2). – P. 265-274.
140. Evaluation of renal functions in asphyxiated newborns / A. Aggarwal, P. Kumar, G. Chowdhary [et al.] // *J. Trop. Pediatr.* – 2005. – Vol. 51 (5). – P. 295-299.
141. Relationship between acute kidney injury and brain MRI findings in asphyxiated newborns after therapeutic hypothermia / S. Sarkar, D.J. Askenazi, B.K. Jordan [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2014. – Vol. 75 (3). – P.431-435.
142. Selective head cooling with mild systemic hypothermia after neonatal encephalopathy: multicentre randomised trial / P.D. Gluckman, J.S. Wyatt, D. Azzopardi [et al.] // *Lancet.* – 2005. – Vol. 365. – P. 663-670.

143. Gupta C. A new approach to define acute kidney injury in term newborns with hypoxic ischemic encephalopathy / C. Gupta, A.N. Massaro, P.E. Ray // *Pediatr. Nephrol.* – 2016. – Vol. 31 (7). – P. 1167-1178.
144. Sweetman D.U. Biomarkers of acute kidney injury in neonatal encephalopathy / D.U. Sweetman, E.J. Molloy // *Eur. J. Pediatr.* – 2013. – Vol. 172 (3). – P. 305-316.
145. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in asphyxiated neonates: a prospective cohort study / F. Essajee, F. Were, B. Admani // *Pediatr. Nephrol.* – 2015. – Vol. 30 (7). – P.1189-1196.
146. Coagulopathy in newborns with hypoxic ischemic encephalopathy (HIE) treated with therapeutic hypothermia: a retrospective case-control study / K.R. Forman, Y. Diab, E.C. Wong [et al.] // *BMC Pediatr.* – 2014. – Vol. 14. – P. 277.
147. Lakshminrusimha S. Considerations in the management of hypoxemic respiratory failure and persistent pulmonary hypertension in term and late preterm neonates / S. Lakshminrusimha, G.G. Konduri, R.H.Steinhorn // *J. Perinatol.* – 2016. – Vol. 36, Suppl 2. – P. S12-19.
148. Lakshminrusimha S. The fetal circulation, pathophysiology of hypoxemic respiratory failure and pulmonary hypertension in neonates, and the role of oxygen therapy / S. Lakshminrusimha, O.D. Saugstad // *J. Perinatol.* – 2016. – Vol. 36, Suppl 2. – P. S3-S11.
149. Goldberg R.N. Necrotizing enterocolitis in the asphyxiated full-term infant / R.N. Goldberg, D.W. Thomas, F.R. Sinatra // *Am. J. Perinatol.* – 1983. – Vol. 1 (1). – P.40-42.
150. Effects of whole body therapeutic hypothermia on gastrointestinal morbidity and feeding tolerance in infants with hypoxic ischemic encephalopathy / K.M. Thornton, H. Dai, S. Septer [et al.] // *Int. J. Pediatr.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 643-689.

151. Grenz A. Hypoxia signaling during intestinal ischemia and inflammation / A. Grenz, T. Clambey, H.K. Eltzshgig // *Curr. Opin. Crit. Care.* – 2012. – Vol. 18 (2). – P. 178-185.
152. Beath S.V. Hepatic function and physiology in the newborn / S.V. Beath // *Semin. Neonatol.* – 2003. – Vol. 8. – P. 337-346.
153. Correlation of Apgar Score with Asphyxial Hepatic Injury and Mortality in Newborns: A Prospective Observational Study From India / D. Sharma, M. Choudhary, M. Lamba [et al.] // *Clin. Med. Insights Pediatr.* – 2016. – Vol. 10. – P. 27-34.
154. Status of liver enzymes in babies with perinatal asphyxia / M.T. Islam, M.N. Islam, A.H. Mollah [et al.] // *Mymensingh. Med. J.* – 2011. – Vol. 20. – P. 446-449.
155. Liver enzymes cannot be used to predict liver damage after global hypoxia-ischemia in a neonatal pig model / M. Karlsson, S. Satas, J. Stone [et al.] // *Neonatology.* – 2009. – Vol. 96. – P. 211-218.
156. Moderate hypothermia to treat perinatal asphyxial encephalopathy / D.V. Azzopardi, B. Strohm, A.D. Edwards [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 361. – P. 1349-1358.
157. Hemostasis and platelet dysfunction in asphyxiated neonates / M.E. Bauman, P.Y. Cheung, M.P. Massicotte // *J. Pediatr.* – 2011. – Vol. 158 (Suppl. 2). – P. e35-e39.
158. Suzuki S. Hypercoagulability and DIC in high-risk infants / S. Suzuki, S. Morishita // *Semin. Thromb. Hemost.* – 1998. – Vol. 24. – P. 463-466.
159. Christensen R.D. Thrombocytopenia in late preterm and term neonates after perinatal asphyxia / R.D. Christensen, V.L. Baer, H.M. Yaish // *Transfusion.* – 2015. – Vol. 55. – P. 187-196.
160. Effects of hypoxia on megakaryocyte size and number of C3H and BALB/c mice / T.P. McDonald, M.B. Cottrell, R.E. Clift [et al.] // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1992. – Vol. 199. – P. 287-290.

161. Effects of hypoxia on megakaryocyte progenitors obtained from the umbilical cord blood of term and preterm neonates / M.A. Saxonhouse, L.M. Rimsza, G. Stevens [et al.] // *Biol. Neonate.* – 2006. – Vol. 89. – P. 104-108.
162. Bauman M.E. Hemostasis and platelet dysfunction in asphyxiated neonates / M.E. Bauman, P.Y. Cheung, M.P. Massicotte // *J. Pediatr.* – 2011. – Vol. 158. – P. e35-e39.
163. Кузьмина С.В. Полиморфизм генов ренин–ангиотензин–альдостероновой системы и особенности состояния вегетативной нервной системы детей и подростков с артериально гипертензией / С.В. Кузьмина, О.А. Мутафьян В.И. Ларионова // *Педиатрия.* – 2011. – Т. 90, № 5. – С.58-62.
164. Jeng J. R. Left ventricular mass, carotid wall thickness and angiotensinogen gene polymorphism in patients with hypertension / J. R. Jeng // *Hypertension.* – 1999. – Vol. 5. – P. 443-450.
165. Tita A. T. Eunice Kennedy Shriver NICHD Maternal-Fetal Medicine Units Network: Timing of elective repeat cesarean delivery at term and neonatal outcomes / A. T. Tita, M. B. Landon, C. Y. Spong // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 360. – P. 111-120.
166. Frequency of a deletion polymorphism in the gene for angiotensin converting enzyme is increased in African-Americans with hypertension / K. Duru, S. Farrow, J. M. Wang [et. al.] // *Am. J. Hypertens.* – 1994. – Vol. 7. – P. 759-762.
167. Angiotensin II type I receptor gene polymorphism: anthropometric and metabolic syndrome traits / M. Abdollahi, T. Gaunt, H. Syddall [et al.] // *J. Med. Genet.* – 2005. – Vol. 42(5). – P. 396–401.
168. ACE mediates ventilator-induced lung injury in rats via angiotensin II but not bradykinin / R. M. Wösten-van Asperen, R. Lutter, J.J. Haïtsma [et al.] // *E.R.J.* – 2008. – Vol. 31, №. 2. – P. 363-371.

169. Shimokawa H. Nitric oxide synthases in the pathogenesis of cardiovascular disease: lessons from genetically modified mice / H. Shimokawa, M. Tsutsui // *Pflugers. Archiv.* – 2010. – V. 459. – P. 959-967.
170. Spontaneous myocardial infarction and nitric oxide synthase / M. Tsutsui, S. Nakata, H. Shimokawa [et al.] // *Trends. Cardiovasc. Med.* – 2008. – Vol. 18. – P. 275-279.
171. Pathophysiological relevance of NO signaling in the cardiovascular system: novel insight from mice lacking all NO synthases / M. Tsutsui, H. Shimokawa, Y. Otsuji [et al.] // *Pharmacol. The.* – 2010. – Vol. 128. – P. 499-508.
172. Затеищиков Д.А. Полиморфизм генов NO-синтетазы и рецептора ангиотензина II 1-го типа и эндотелиальный гемостаз у больных ишемической болезнью сердца / Д. А. Затеищиков, Л. О. Минушкина, О. Ю. Кудряшова [и др.] // *Кардиология.* – 2000. – № 11. – С. 28-32.
173. Miyahara K. Cloning and structural characterization of the human endothelial nitric-oxide-synthase gene / K. Miyahara, T. Kawamoto, K. Sase [et al.] // *Eur. J. Biochem.* – 1994. – Vol. 223 (3). – P.719-726.
174. Про результати проведення III Національного конгресу з біоетики  
Постанова № 288 від 07.11.2007/ Президія національної академії наук  
України : [www.zakon.nau.ua/doc/?uid=1041.26742.0](http://www.zakon.nau.ua/doc/?uid=1041.26742.0)
175. Principles of Use of Biostatistics in Research / V. Manja, S. Lakshminrusimha // *Neoreviews.* – 2014. – Vol. 15, № 4 – P. 133–150.
176. Шабалов Н. П. Неонатология . – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – Т. 1. – 608 с.
177. Mortazavi F. Acute kidney failure in neonatal period / F. Mortazavi, S.S. Hosseinpour, N. Nejati // *Iran. J. Kidney Dis.* – 2009. – Vol. 3. – P. 136-140.
178. Цыпленкова В. Г. Апоптоз / В. Г. Цыпленкова, Н. Н. Бескровнова // *Архивы патологии.* – 1996. – № 5. – С. 1015–1020.

179. Карупу В. Я. Электронная микроскопия / В. Я. Карупу. – К. : Вища школа, 1984. – 208 с.
180. A Multiplex Polymerase Chain Reaction Protocol for the Simultaneous Analysis of the Glutathione S-Transferase *GSTM1* and *GSTT1* Polymorphisms / M. Arand, R. Muhlbauer, J. Hengstler [et al.] // *Analytical Biochemistry*. – 1996. – № 236. – P. 184–186.
181. Intrapartum-related neonatal encephalopathy incidence and impairment at regional and global levels for 2010 with trends from 1990 / A.C.C. Lee, N. Kozuki, H. Blencowe [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2013. – Vol. 74 (Suppl 1). – P. 50–72.
182. Аналіз поліморфізму генів *GSTT1*, *GSTM1* у новонароджених, які перенесли перинатальну асфіксію / Т.К. Знаменська, Н.Г. Горовенко, В.І. Похилько [та ін.] // *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. – 2009. – Т. 71, № 5. – С. 28-29.
183. Antepartum risk factors for newborn encephalopathy: the Western Australian case-control study / N. Badawi, J.J. Kurinczuk, J.M. Keogh [et al.] // *BMJ*. – 1998. – Vol. 317 (7172). – P. 1549–1553.
184. Antecedents of neonatal encephalopathy in the Vermont Oxford Network Encephalopathy Registry / K.B. Nelson, P. Bingham, E.M. Edwards [et al.] // *Pediatrics*. – 2012. – Vol. 130 (5). – P. 878–886.
185. Pappas A. Long-Term Cognitive Outcomes of Birth Asphyxia and the Contribution of Identified Perinatal Asphyxia to Cerebral Palsy / A. Pappas, S.J.Korzeniewski // *Clin. Perinatol.* – 2016. –Vol. 43 (3). – P. 559-572.
186. Perinatal Asphyxia from the Obstetric Standpoint / C. A. Herrera, R. M. Silver // *Clinics. in Perinatology*. – 2016. – Vol. 43, Issue 3. – P. 423-438.
187. Use of 2-channel bedside electroencephalogram monitoring in term-born encephalopathic infants related to cerebral injury defined by magnetic resonance imaging / D.K. Shah, S. Lavery, L.W. Doyle [et al.] // *Pediatrics*. – 2006. – Vol. 118. – P. 47–55.

188. Perinatal asphyxia with hyperoxemia within the first hour of life is associated with moderate to severe hypoxic-ischemic encephalopathy / V.S. Kapadia, L.F. Chalak, T.L. DuPont [et al.] // *J. Pediatr.* – 2013. – Vol. 163. – P. 949–954.
189. Role of perinatal inflammation in cerebral palsy / S. Girard, H. Kadhim, M. Roy [et al.] // *Pediatr. Neurol.* – 2009. – Vol. 40. – P. 168–174.
190. Perinatal asphyxia leads to PARP-1 overactivity, p65 translocation, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  overexpression, and apoptotic-like cell death in mesencephalon of neonatal rats: prevention by systemic neonatal nicotinamide administration / T. Neira-Peña, E. Rojas-Mancilla, V. Munoz-Vio [et al.] // *Neurotox. Res.* – 2015. – Vol. 27 (4). – P. 453-465.
191. Гипоксия плода и асфиксия новорожденного / Знаменская Т.К., Похилько В.И., Подольский В.В., Ципкун А.Г., Ковалева Е.М., Мироненко К.Е., Шевченко Л.И., Костюкова К.О. – Киев: ЗАТ"Биолик", 2011. – 451 с.
192. Lactate dehydrogenase predicts hypoxic ischaemic encephalopathy in newborn infants: a preliminary study / M. Karlsson, E. Wiberg-Itzel, E. Chakkarapani [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2010. – Vol. 99. – P. 1139–1144.
193. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers for adults with early (stage 1 to 3) non-diabetic chronic kidney disease / P. Sharma, R.C. Blackburn, C.L. Parke [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2011. – Vol. 5, (10) Режим доступа:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21975774>
194. Myocardial ischaemia in neonates with perinatal asphyxia. Electrocardiographic, echocardiographic and enzymatic correlations / I. Barberi, M.P. Calabrò, S. Cordaro [et al.] // *Eur. J. Pediatr.* – 1999. – Vol. 158(9). – P. 742-747.

195. Zhua R. A Clinical Study of the N-Terminal pro-Brain Natriuretic Peptide in Myocardial Injury after Neonatal Asphyxia / R. Zhua, Z. Nie // *Pediatrics and Neonatology*. – 2015. – Vol. 1. – P. 1-7.
196. Metabolomics applied in neonatology / N. Iacovidou, A. Syggelou, A. Chalkias // *Bioanalysis*. – 2014. – Vol. 6(3). – P. 403-410.
197. Metabolomics in neonatology: fact or fiction? / V. Fanos, J. van den Anker, A. Noto [et al.] // *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. – 2013. – Vol. 18, No 1. – P. 3-12.
198. Part 7: neonatal resuscitation: 2015 International Consensus on Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care Science with Treatment Recommendations. / J. Wyllie, J.M. Perlman, J. Kattwinkel [et al.] // *Resuscitation*. – 2015. – Vol. 95. – P. e169-e201.
199. Part 11: Neonatal resuscitation. 2010 International Consensus on Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care Science with Treatment Recommendations / J. Wyllie, J.M. Perlman, J. Kattwinkel [et al.] // *Resuscitation*. – 2010. – Vol. 81S. – P. e260-e287.
200. Finster M. The Apgar score has survived the test of time / M. Finster, M. Wood // *Anaesthesiology*. – 2005. – Vol. 102. – P. 855-857.
201. Intrauterine asphyxia: clinical implications for providers of intrapartum care / J. Fahey, T.L. King // *J. Midwifery Women's Health*. – 2005. – Vol. 50. – P. 677–686.
202. Endothelial constitutive nitric oxide synthase, angiotensin converting enzyme, angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms and endothelial functions in healthy individuals / T.S. Akpinar, A. Ozkok, M. Kose [et al.] // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. – 2014. – Vol. 18. – P. 39-45.
203. Comparative effect of ACE-inhibition and angiotensin II-type 1 receptor antagonism on bioavailability of nitric oxide in patients with coronary artery disease-role of superoxide dismutase / B. Hornig,



- U. Landmesser, C. Kohler [et al.] // *Circulation*. – 2001. – Vol. 103. – P. 799-805.
204. Dawes G.S.: *Foetal and neonatal physiology: a comparative study of the changes at birth*. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1968.
205. Cross K.W. Resuscitation of the asphyxiated infant / K.W. Cross // *Br. Med. Bull.* – 1966. – Vol. 22. – P. 73-78.
206. Some observations on foetal and new-born rhesus monkeys / G.S. Dawes, H.N. Jacobson, J.C. Mott [et al.] // *J. Physiol.* – 1960. – Vol. 152. – P. 271-298.
207. Effect of hyperketonemia and hyperlacticacidemia on symptoms, cognitive dysfunction, and counterregulatory hormone responses during hypoglycemia in normal humans / T.Veneman, A.Mitrakou, M.Mokan [et al.] // *J. Diabetes*. – 1994. – Vol. 43. – P. 1311-1317.
208. Clinical features and insulin regulation in infants with a syndrome of prolonged neonatal hyperinsulinism / F.M. Hoe, P.S.Thornton, L.A. Wanner [et al.] // *J. Pediatr.* – 2006. – Vol. 148. – P. 207-212.
209. Cryer P.E. Hypoglycemia, functional brain failure, and brain death / P.E. Cryer // *J. Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117. – P. 868-870.
210. Cryer P.E. *Hypoglycemia in diabetes: Pathophysiology, prevalence, and prevention*. 2nd ed. American Diabetes Association, Alexandria (VA); 2013.
211. Long-term follow-up of 114 patients with congenital hyperinsulinism / T. Meissner, U.Wendel, P. Burgard [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 149. – P. 43-51.
212. Effects of hypoglycemia on developmental outcome in children with congenital hyperinsulinism / L. Steinkrauss, T.H. Lipman, C.D. Hendell [et al.] // *J. Pediatr. Nurs.* – 2005. – Vol. 20. – P. 109-118.
213. Recommendations from the Pediatric Endocrine Society for Evaluation and Management of Persistent Hypoglycemia in Neonates,

- Infants, and Children / P.S. Thornton, C.A. Stanley, D.D. De Leon // *The Journal of Pediatrics*. – 2015. – Vol. 167, Issue 2. – P. 238-245.
214. Kelm M. Nitric Oxide from L-arginine : a bioregulatory system / M. Kelm, J. Schrader. – Amsterdam. : Excerpta medica, 1990. – P. 47-53.
215. Molecular mechanisms of dexamethasone inhibition of nitric oxide synthase expression in interleukin 1-beta-stimulated mesangial cells : Evidence for the involvement of transcriptional and posttranscriptional regulation / D. Kunz, G. Walker, W. Eberhardt [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1996. – Vol. 93, No 1. – P. 255-259.
216. Похилько В.І. Діагностичне значення визначення активності сумарних нітритів та нітратів ( $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ) в сечі у немовлят, які перенесли перинатальну асфіксію / В.І. Похилько, О.М. Ковальова, Н.Р. Касянчук // *Світ медицини та біології*. – 2007. – № 4. – С.55-59.
217. The search continues for the elusive biomarkers of neonatal brain injury / D.M. Ferriero, S.L. Bonifacio // *Journal of Pediatrics*. – 2014. – Vol. 164, № 3. – P. 438-440.
218. Andreoli S.P. Acute renal failure in the newborn / S.P. Andreoli // *Semin. Perinatol*. – 2004. – Vol. 8. – P. 112-123.
219. Nada A. Acute kidney injury in the fetus and neonate / A. Nada, E.M. Bonachea, D.J. Askenazi // *Semin. Fetal Neonatal Med*. – 2016. Режим доступу: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28034548](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28034548)
220. The main etiologies of acute kidney injury in the newborns hospitalized in the neonatal intensive care unit / H.E. Momtaz, M.K. Sabzehei, B. Rasuli [et al.] // *J. Clin. Neonatol*. – 2014. – Vol. 3(2). – P. 99-102.
221. Acute kidney injury in a single neonatal intensive care unit in Turkey / F. Bolat, S. Comert, G. Bolat [et al.] // *World J Pediatr*. – 2013. – Vol. 9(4). – P. 323-329.

222. Neonatal acute kidney injury in a tertiary center in a developing country / P. Vachvanichsanong, E. McNeil, S. Dissaneevate [et al.] // *Nephrol Dial Transplant.* – 2012. – Vol. 27(3). – P. 973-977.
223. Histological features of acute tubular necrosis in native kidneys and long-term renal function / R.C. Abdulkader, A.B. Liborio, D.M. Malheiros [et al.] // *Renal Failure.* – 2008. – Vol. 30(7). – P. 667–673.
224. Renal ischemic injury results in permanent damage to peritubular capillaries and influences long-term function / D.P. Basile, D. Donohoe, K. Roethe // *The American Journal of Physiology—Renal Physiology.* – 2001. – Vol. 281(5). – P. F887–F899.
225. Basile D.P. Rarefaction of peritubular capillaries following ischemic acute renal failure: a potential factor predisposing to progressive nephropathy / D.P. Basile // *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* – 2004. – Vol. 13(1). – P. 1–7.
226. Renal failure in asphyxiated neonates / B.D. Gupta, P. Sharma, J. Bagla [et al.] // *Indian. Pediatr.* – 2005. – Vol. 42. – P. 928-934.
227. Acute renal failure after bilateral nephrectomy is associated with cytokinemediated pulmonary injury / T.S. Hoke, I.S. Douglas, C.L. Klein [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2007. – Vol. 18. – P. 155-164.
228. Faubel S. Pulmonary complications after acute kidney injury / S. Faubel // *Adv. Chronic. Kidney Dis.* – 2008. – Vol. 15. – P. 284-292.
229. Comparison of experimental lung injury from acute renal failure with injury due to sepsis / J. Kim do, S.H. Park, M.R. Sheen [et al.] // *Respiration.* – 2006. – Vol. 73. – P. 815–824.
230. Effect of acute kidney injury on weaning from mechanical ventilation in critically ill patients / J.M. Jr. Vieira, I. Castro, A. Curvello-Neto / *Crit. Care Med.* – 2007. – Vol. 35. – P. 184-191.
231. Libório A.B. Acute Kidney Injury in Neonates: From Urine Output to New Biomarkers / A.B. Libório, K.M.P. Castello Branco, C.T. de Melo Bezerra // *Biomed. Res. Int.* – 2014. [Электронный ресурс]. Режим

доступу: [/www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3964763/#B57](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3964763/#B57) – Назва з екрана

232. Morgan CJ, Zappitelli M, Robertson CM, et al. Risk factors for and outcomes of acute kidney injury in neonates undergoing complex cardiac surgery. *Journal of Pediatrics*. 2013;162(1):120.e1–127.e1.
233. Postasphyxial renal injury in newborns as a prognostic factor of neurological outcome / E. Hadzimuratovic, S. Skrablin, A. Hadzimuratovic [et al.] // *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* – 2014. – Vol. 27 (4). – P. 407-410.
234. Fluid overload and mortality in children receiving continuous renal replacement therapy: the prospective pediatric continuous renal replacement therapy registry / S.M. Sutherland, M. Zappitelli, S.R. Alexander [et al.] // *Am. J. Kidney Dis.* – 2010. – Vol. 55 (2). – P. 316-325.
235. Acute kidney injury in neonatal intensive care: Medicines involved / A.I. Safina, M.A. Daminova, G.A. Abdullina // *Int. J Risk Saf. Med.* – 2015. – Vol. 27, Suppl 1. – P. S9-S10.
236. Fuchs T.C. Biomarkers for Drug-Induced Renal Damage and Nephrotoxicity—An Overview for Applied Toxicology // T.C. Fuchs, P. Hewitt // *AAPS J.* – 2011. – Vol. 13(4). P. 615–631.
237. Bakr A.F. Prophylactic theophylline to prevent renal dysfunction in newborns exposed to perinatal asphyxia--a study in a developing country // *Pediatr. Nephrol.* – 2005. – Vol. 20(9). – P. 1249-1252.
238. Theophylline for prevention of kidney dysfunction in neonates with severe asphyxia / Z. Eslami, A. Shajari, M. Kheirandish [et al.] // *Iran J Kidney Dis.* – 2009. – Vol. 3(4). – P. 222-226.
239. Al-Wassia H. Prophylactic theophylline for the prevention of severe renal desfunction in term and post-term neonates with perinatal asphyxia: a systemic review and meta-analysis of randomized controlled trialled trials / H. Al-Wassia, B. Alshaikh, R. Sauve // *J. Perinatol.* – 2013. – Vol. 33 (4).- P. 271-277.

240. Chow B.S. Angiotensin II type 2 receptor (AT2R) in renal and cardiovascular disease // B.S. Chow, T.J. Allen // *Clin Sci (Lond)*. – 2016. – Vol. 130(15). – P. 1307-1326.
241. Zhuo J.L. New insights and perspectives on intrarenal renin-angiotensin system: focus on intracrine/intracellular angiotensin II / J.L. Zhuo, X.C. Li // *Peptides*. – 2011. – Vol. 32. – P. 1551-1565.
242. Niimura F. The renin-angiotensin system in the development of the congenital anomalies of the kidney and urinary tract / F. Niimura, V. Kon, I. Ichikawa // *Curr. Opin. Pediatr*. – 2006. – Vol. 18 (2). – P. 161-166.





**More  
Books!** 



**yes**  
**I want morebooks!**

Покупайте Ваши книги быстро и без посредников он-лайн - в одном из самых быстрорастущих книжных он-лайн магазинов!  
Мы используем экологически безопасную технологию "Печать-на-Заказ".

Покупайте Ваши книги на  
**[www.morebooks.de](http://www.morebooks.de)**

Buy your books fast and straightforward online - at one of the world's fastest growing online book stores! Environmentally sound due to Print-on-Demand technologies.

Buy your books online at  
**[www.morebooks.de](http://www.morebooks.de)**

OmniScriptum Marketing DEU GmbH  
Bahnhofstr. 28  
D - 66111 Saarbrücken  
Telefax: +49 681 93 81 567-9

[info@omniscrptum.com](mailto:info@omniscrptum.com)  
[www.omniscrptum.com](http://www.omniscrptum.com)

OMNIScriptum





