

УДК: 612.015.13-07-002-053.31

## РОЛЬ ПРОТЕАЗНО-ИНГИБИТОРНОЙ СИСТЕМЫ В ДИАГНОСТИКЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ

Л.Н. Гурина, Н.С. Парамонова

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

*Повышение активности комплекса эластаза- $\alpha$ 1-антитрипсин в первые сутки жизни является чувствительным и быстро реагирующим показателем неспецифических воспалительных процессов в организме новорожденного, что может послужить обоснованием индивидуальной программы терапии и реабилитации.*

**Ключевые слова:** новорожденные, период адаптации, эластаза,  $\alpha$ 1-антитрипсин,  $\alpha$ 2-макроглобулин.

*The increasing activity of the elastase- $\alpha$ 1-antitrypsin complex on the first day of life is a sensitive and quick-response parameter of nonspecific inflammatory processes in the newborn organism that can serve as the substantiation of the individual program of therapy and rehabilitation.*

**Key words:** newborns, adaptation period, elastase,  $\alpha$ 1-antitrypsin,  $\alpha$ 2-macroglobulin.

В настоящее время респираторный дистресс-синдром (РДС) у недоношенных новорожденных, а также у доношенных новорожденных с высоким риском реализации внутриутробного инфицирования (ВУИ) представляет серьезную медико-социальную проблему в связи с его высокой распространенностью, необходимостью применения препаратов сурфактанта, длительной искусственной вентиляции легких (ИВЛ). Несмотря на проводимую терапию, РДС способствует формированию бронхолегочной дисплазии, в настоящее время классифицируемую как хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ), резистентную к проводимой терапии и, в конечном итоге, приводящую к инвалидизации детей.

В патогенезе респираторных расстройств у новорожденных ведущую роль играют нарушения в системе эластазы (Э) и ее ингибиторов. Более 10% легочной паренхимы новорожденного составляет эластин. Этот белок играет ключевую роль в развитии альвеолярной стенки [1, 3]. Повышение активности эластазы при патологических состояниях приводит к деструкции легких, что утяжеляет течение основного заболевания и диктует необходимость использования ИВЛ [2, 6]. Являясь фактором, разрушающим ткань легкого, эластаза создает условия для размножения и развития патогенной флоры. Активность эластазы контролируется тремя ингибиторами:  $\alpha$ 1-протеиназным ингибитором ( $\alpha$ 1-АТ),  $\alpha$ 2-макроглобулином ( $\alpha$ 2-МГ) и слизистым протеиназным ингибитором.

Несмотря на большое количество работ, посвященных диагностическому значению ингибиторно-протеазной системы при ряде патологических состояний у взрослых и детей старшего возраста, их значение для диагностики и прогноза течения инфекционного воспаления у новорожденных изучено недостаточно [7, 8, 9, 10, 11, 12]. Остается множество нерешенных вопросов, связанных, в первую очередь, с оценкой чувствительности и специфичности этих показателей у детей первых недель жизни в зависимости от гестационного возраста, вопросы диагностической значимости отдельных показателей при РДС-синдроме у недоношенных и детей с высоким риском ВУИ.

Цель исследования: разработать новые методы ранней диагностики, индивидуального прогноза для своевременного проведения первичной и вторичной профилактики заболеваний периода новорожденности на основе изучения ингибиторно-протеазной активности сыворотки крови у доношенных и недоношенных младенцев.

### Материалы и методы

Объектом исследования служила сыворотка пуповинной крови, в которой определяли показатели системы ингибиторно-протеазной активности (эластазу,  $\alpha$ 1-антитрипсин,  $\alpha$ 2-макроглобулин). Забор крови проводили сразу после рождения. Было обследовано 25 доношенных и 25 недоношенных детей с различными сроками гестации. Дети с внутриутробной пневмонией, тяжелым поражением ЦНС, в крайне тяжелом и агональном состоянии в исследование не включались. Доношенные дети были распределены на две группы: здоровые ( $n=12$ ) и группа новорожденных с умеренным риском реализации инфицирования ( $n=13$ ) [4]. Недоношенные подразделены на 2 подгруппы в зависимости от гестационного возраста: 32-34 недели гестации ( $n=10$ ) и 35-37 неделя гестации ( $n=15$ ).

Активность эластазоподобных протеаз определяли по методу Vesser L., Blout E.R. [13] с использованием в качестве субстрата БАНЭ (нитрофениловый эфир N-бутилоксикарбонил-L-аланина). Данный метод основан на взаимодействии эластазоподобных протеаз (эластаза нейтрофилов, сериновая протеаза, тиоловая протеаза (катепсин E), сериновые эластазы моноцитов и тромбоцитов, металлопротеаза макрофагов) с субстратом БАНЭ. В результате этой реакции образуется p-нитрофенол, причем, количество накопившегося p-нитрофенола пропорционально активности эластазоподобных протеаз. Определение  $\alpha$ 1-АТ и  $\alpha$ 2-МГ проводили по методу Нартиковой В.Ф. и Пасхина Т.С. [5]. Метод основан на торможении расщепления трипсином белка и низкомолекулярного субстрата БАЭЭ.

Наряду с исследованием системы эластазы и ее ингибиторов, применяли также другие параклинические методы исследования:

- общие клинические методы исследования;
- лабораторные методы исследования: общий анализ крови, мочи, исследование газового состава крови, биохимический анализ крови (С-реактивный белок, билирубин, ферменты), микробиологический (посевы с определением чувствительности микрофлоры — по показаниям);
- специальные инструментальные методы: УЗИ внутренних органов, НСГ, ЭХО-КГ, рентгенография органов грудной клетки и брюшной полости (по показаниям).

Статистическая обработка проводилась с использованием электронных таблиц Excel-XP в соответствии с правилами вариационной статистики, определением *t* критерия Стьюдента с помощью компьютерной программы «Biostat». Значения показателей представлены в виде средних величин и их стандартных отклонений ( $M \pm m$ ). Значение  $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$  — достоверное изменение. Число наблюдаемых детей обозначали *n*.

### Результаты исследований

Было обследовано 50 новорожденных в периоде адаптации. Из них 25 доношенных и 25 недоношенных с разными сроками гестации.

Данные проведенных исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Активность протеаз и их эндогенных ингибиторов сыворотки пуповинной крови у новорожденных ( $M \pm m$ )

Группы	АТ, г/л	МГ, г/л	ЭА, мЕ/мл
Референтные значения	1,9-3,5	1,75-4,2	-
Здоровые, n=12	2,02±0,1	3,13±0,2	0,28±0,02
Группа риска по ВУИ, n=13	4,21±0,2***	2,98±0,19	0,54±0,01***
Недоношенные (32-34 недели гестации), n=10	4,78±0,1***	3,37±0,17	0,45±0,01***
Недоношенные (35-37 недель гестации), n=15	4,52±0,2***	3,54±0,14	0,38±0,02**

*P* по сравнению с группой здоровых: \* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$

При трактовке полученных результатов было учтено, что на полученные показатели оказывают влияние разные факторы, в частности, преморбидный фон (заболевания матери, акушерский анамнез), гестационный возраст ребенка.

Уровень эластазы и ее ингибиторов в сыворотке пуповинной крови у доношенных новорожденных был различным в зависимости от группы. Так, у детей из группы здоровых он составил  $0,28 \pm 0,02$  мЕ/мл, у детей из группы риска по ВУИ уже в первые сутки концентрация эластазы была  $0,54 \pm 0,01$ , что достоверно выше, чем у здоровых ( $p < 0,001$ ). У недоношенных уровень эластазы в сыворотке пуповинной крови был выше, чем у здоровых, но несколько меньше, чем в группе риска по ВУИ. Причем, при сроке гестации 32–34 недели он был несколько больше, чем при сроке 35–37 недель, однако разница статистически недостоверна. Повышение активности эластазы в группе доношенных детей с риском по ВУИ позволяет диагностировать воспалительный процесс в организме ребенка на ранних стадиях и назначить ему соответствующую терапию. Анализ течения адаптационного периода в этой группе детей показал, что в 93% случаев у них наблюдались клинические признаки дисадаптационного синдрома, который проявлялся синдромом угнетения или возбуждения ЦНС, респираторным дистресс-синдромом, локальным кожно-геморрагическим синдромом. При уровне эластазоподобной активности меньше  $0,38$  мЕ/мл клинические признаки дисадаптации наблюдались у 38% детей.

Повышение  $\alpha 1$ -антитрипсина при рождении в группах недоношенных детей по-видимому, определяется функциональной неполноценностью  $\alpha 1$  АТ, который не расходуется, как у доношенных, на ингибирование эластазы, а в группе детей с риском развития ВУИ является доклиническим маркером уже имеющегося воспалительного процесса.

Активность  $\alpha 2$  макроглобулина во всех группах детей практически не выходила за пределы референтных величин.

### Заключение

Таким образом, проведенные исследования показали, что повышение комплекса Э+ $\alpha 1$  АТ в первые часы жизни является чувствительным и быстро реагирующим показателем неспецифических воспалительных процессов в организме новорожденного, что может послужить обоснованием для разработки индивидуальной программы терапии и реабилитации. При повышении этого показателя более  $0,54 \pm 0,01$  мЕ/мл развивается различной степени выраженности дисадаптационный синдром. Анализ антипротеолитической защиты свидетельствует о наличии дисбаланса системы протеиназ и их ингибиторов, способствующих поражению не только легких, но и свертывающей системы крови, сердечно-сосудистой и пищеварительной систем, что требует дальнейшего изучения.

### Литература

1. Активность эластаза-ингибиторной системы при нозокомиальных пневмониях у недоношенных новорожденных детей, находящихся на искусственной вентиляции легких / А.Г. Кравцова, М.В. Кушнарева, М.С. Ефимов и др. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — Москва, 2005. — том 4, № 5–6. — С. 13–17.
2. Власенко, А.В. Прошлое и будущее определение понятий острого повреждения легких и респираторный дистресс-синдром и их лечение / А.В. Власенко, И.О. Зак, В.В. Мороз. // Реанимация и интенс. терап. Анестезиология. — 2000. — № 3, Т.2. — С. 11.
3. Володин, Н.Н. Белки «острой фазы» воспаления при бактериальных инфекциях у новорожденных детей / Н.Н. Володин, В.В. Долгов, Д.Н. Дегтярев. // Российск. вестн. перинат. и педиатр. — 2000. — №1. — С. 10–13.
4. Инструкция по интенсивной терапии гипоксических состояний у новорожденных / Г.А. Шишко, М.В. Мамонтов и соавт. — Мн., 2002.
5. Нартикова, В.Ф. Методика определения ингибиторов протеаз в биологических жидкостях / В.Ф. Нартикова, Т.С. Пасхина // Вопросы медицинской химии. — 1979. — № 4. — С. 494–499.
6. Общая трипсиноподобная, эластазоподобная и антитриптическая активность у пациентов с контузией глаза / Е.К. Бенделик, В.Л. Доценко, Е.А. Нешкова и др. // Вопросы мед. химии. — 1999. — № 4. — С. 17–22.
7. Принципы лечения новорожденных с респираторным дистресс-синдромом / Н.Н. Володин, М.С. Ефимов, Д.Н. Дегтярев и др. // Рос. педиатр. журн. — 1998. — №2. — С. 29–35.
8. Фомичев М. В. Респираторная поддержка в неонатологии. — Е., 2002. — 150с.
9. Crowley, P. Prophylactic corticosteroids for preterm delivery (Cochrane review). / P. Crowley // In: The Cochrane Library Issue 3, 1999. Oxford: Update Software.
10. Physical development and medical history of children who were treated antenatally with corticosteroids to prevent respiratory distress syndrome: a 10 to 12 year follow-up. / H. Smolders-de Haas, J. Neuvel, B. Schmand et al. // Paediatrics. — 1990. — V. — 86. — P. — 65–70.
11. Sinclair, J. Discussion of Crowley's meta-analysis of randomized controlled trials of antenatal corticosteroids for prevention of respiratory distress syndrome. / J. Sinclair // In: Report of the Consensus Development Conference on the Effect of Corticosteroids for Fetal Maturation on Perinatal Outcomes. National Institutes of Health, Bethesda US. — 1994. — P. — 95–96.
12. Trautshold, I.J. / I.J. Trautshold, E. Werle, Z. Hoppe-Sevler's / Physiol. Chem. — 1961. — V. 48. — P. 325.
13. Vesser, L. The use of p-nitrophenyl N-tert-butylloxycarbonyl-L-alanine as substrate for elastase / L. Vesser, E.R. Blout // Biochim. Biophys. Acta. — 1972. — V. 268. — P. 257–260.

Поступила 13.03.08