

Зайнутдинова Г.Х., Азнабаева Л.Ф. *, Файзуллина А.С.

Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук РБ

*Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа

E-mail: a.fazullina@mail.ru

ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВИ У НОВОРОЖДЕННЫХ МЛАДЕНЦЕВ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ

Проблема ранней диагностики ретинопатии недоношенных (РН) на современном этапе остается весьма актуальной в связи с ростом числа детей с этой патологией. Важным моментом в патогенезе РН является развитие окислительного стресса в связи с повышенной выработкой свободных радикалов, оказывающих разрушительный эффект на различные органы, в том числе и сетчатку глаза. Ряд исследований доказали, что развитие РН происходит на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной системы супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы. В антиоксидантной защите организма участвует также пероксидазная система, в частности, фермент пероксидаза, поступающий во внеклеточное пространство при фагоцитозе, повреждении клеток органов, тканей и катализирующий реакции окисления различных веществ с помощью перекиси водорода. Одним из показателей, позволяющим оценить состояние пероксидазной системы, является определение в крови активности внеклеточных пероксидаз. Однако данных об участии внеклеточной пероксидазной активности (ВПА) крови в развитии и характере клинического течения РН в доступной научной литературе авторами обнаружено не было.

В этой работе обобщены результаты исследований показателя оксидантно-антиоксидантной защиты – внеклеточной пероксидазной активности крови у 3–4 недельных 63 недоношенных новорожденных. Проведенные исследования показателя внеклеточной пероксидазной активности в сыворотке крови у недоношенных новорожденных показали, что у 48,8 % младенцев с пониженными его значениями происходило развитие той или иной клинической формы ретинопатии недоношенных. У большинства (61,9 %) из них развилась I стадия, почти у трети (28,6 %) наблюдалось прогрессирование до II-III стадии, в меньшем числе случаев диагностировали (9,5 %) заднюю агрессивную форму заболевания.

Исследования, проведенные авторами, установили, что риск развития РН повышается при обнаружении сопутствующей соматической патологии органов дыхания и кровообращения при сниженной активности внеклеточных пероксидаз сыворотки крови у недоношенных новорожденных в 3–4 недельном возрасте.

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных, внеклеточная пероксидазная активность крови.

Актуальность

Проблема ранней диагностики ретинопатии недоношенных (РН) на современном этапе остается весьма актуальной в связи с ростом числа детей с этой патологией [5], [9]. Одним из факторов риска развития РН, как показали исследования, является проведение кислородной терапии недоношенному младенцу с первых дней жизни [3]. Проведенные научные исследования установили, что длительная искусственная вентиляция легких и оксигенотерапия, а также колебания концентрации кислорода во вдыхаемом воздухе в сочетании с незрелостью легких и других жизненно важных органов и систем недоношенного ребенка, увеличивают вероятность развития этого заболевания [7]. Важным моментом в патогенезе РН является развитие окислительного стресса в связи с повышенной выработкой свободных радикалов, оказывающих разрушительный эффект на различные органы, в том числе и сетчатку глаза [13], [14], [16]. Имеются данные, что при гипоксии возникает снижение активно-

сти ферментов, контролирующих формирование свободных радикалов и утилизирующих продукты перекисного окисления [10], [11]. Ряд исследований доказали, что развитие ретинопатии недоношенных происходит на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной системы супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы [12].

В антиоксидантной защите организма участвует также пероксидазная система, в частности, фермент пероксидаза, поступающий во внеклеточное пространство при фагоцитозе, повреждении клеток органов, тканей и катализирующий реакции окисления различных веществ с помощью перекиси водорода [8]. Одним из показателей, позволяющим оценить состояние пероксидазной системы, является определение в крови активности внеклеточных пероксидаз. Известно, что сниженные значения внеклеточной пероксидазной активности (ВПА) выявляются при функциональной недостаточности нейтрофилов, а высокие – при хронической воспалительной патологии [4]. Установлено наличие взаимосвязи между кон-

центрацией ВПА сыворотки крови и клиническим течением таких заболеваний глаза, как эндогенный увеит, возрастная макулодистрофия, бактериальный конъюнктивит у детей [1], [4], [6]. Однако данных об участии ВПА крови в развитии и характере клинического течения РН в доступной научной литературе мы не обнаружили.

Цель

Исследование показателя внеклеточной пероксидазной активности в сыворотке крови у 3-4 недельных недоношенных новорожденных и сопоставление полученных данных с клиническими проявлениями ретинопатии недоношенных и сопутствующими заболеваниями.

Материал и методы

Под наблюдением находились 63 новорожденных, родившихся недоношенными в сроки гестации 25–36 недель, с массой тела от 780 до 2490 граммов. Пациенты были распределены на 2 группы. В первую (основную) группу вошли 43 младенца со сроком гестации от 25 до 33 (в среднем $30,0 \pm 1,9$) недель и массой тела при рождении от 780 до 2150 (в среднем $1328,2 \pm 328,9$) граммов, у которых развилась ретинопатия недоношенных. При этом I стадия РН была диагностирована у 22 младенцев, II стадия – у 11 младенцев, III стадия – у 6 младенцев. Большинство (39 младенцев, 90,7 %) детей наблюдались с классической формой РН (КРН). Задняя агрессивная форма РН (ЗАРН) была установлена только у 4 (9,3 %) младенцев. Вторую группу (контрольную) составили 20 «условно здоровых» младенцев (31,7 %) в гестационном возрасте 25–36 (в среднем $31,9 \pm 1,7$) недель, рожденных с массой тела 980 – 2490 (в среднем $1700 \pm 428,3$) граммов, васкуляризация периферических зон сетчатки которых успешно завершилась без развития клинических признаков ретинопатии недоношенных.

Осмотр пациентов с обязательной биомикроскопией переднего отрезка глаза и офтальмоскопией проводили с частотой 1 раз в 7–14 дней, при III стадии КРН и ЗАРН – 1 раз в 3 дня до окончания активной фазы. Для исследования глазного дна младенцев применяли офтальмоскоп (Heine, Германия) с асферической линзой 14 дптр и ретинальную педиатрическую камеру «Retcam – 3» (Clarity, США). При постановке диагноза РН была использована Международная классификация [15].

Материалом для исследования служила кровь, забор которой проводили из перифери-

ческой венозной системы на 3–4 неделе жизни ребенка. Внеклеточную пероксидазную активность крови определяли методом спектрофотометрии, на плашечном фотометре Labsystems Multiskan MS при длине волны 450 нм [2]. Полученные результаты выражали в условных единицах, рассчитанных по формуле $ВПА = (ОПо - ОПк) * 1000$ (у.е.), где ВПА – показатель внеклеточной пероксидазной активности в исследуемом образце; ОПо – оптическая плотность в лунке с исследуемой сывороткой крови; ОПк – оптическая плотность в контрольной лунке без сыворотки крови; 1000 – произвольный коэффициент для перерасчета целых чисел.

Полученные результаты были обработаны на персональном компьютере методами математической статистики с помощью программы Excel и Statistica 6.1. Уровень статистической значимости различий между группами оценивался непараметрическими методами: по критериям Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Проведенные нами исследования выявили различия в средних показателях ВПА крови у недоношенных новорожденных младенцев основной и контрольной групп (рис. 1, цветная вкладка). Так, средний показатель ВПА сыворотки крови детей с выявленной РН ($1601,86 \pm 105,1$ у.е.) достоверно ($p < 0,05$) отличался от показателя в группе контроля ($2110,6 \pm 77,6$ у.е.). Значения ВПА в первом случае были ниже на $608,8$ у.е. (24,1 %).

Средние значения ВПА в крови младенцев с развитием РН, как классической, так и задней агрессивной, форм были статистически значимо ($p < 0,05$) ниже показателя в группе контроля ($2110,6 \pm 77,6$ у.е.). Младенцы с развитием КРН имели более высокие показатели ВПА в крови ($1638,15 \pm 109,2$ у.е.) сравнительно с новорожденными с ЗАРН ($1248,0 \pm 378,7$ у.е., рис. 2, цветная вкладка). При этом достоверно значимых различий данного показателя между КРН и ЗАРН установить не удалось, что, скорее всего, связано с небольшой выборкой пациентов во втором случае. Следует отметить, что в целом во всей исследуемой группе у 48,8 % младенцев со сниженными показателями ВПА в крови происходило развитие той или иной клинической формы ретинопатии недоношенных.

Младенцы, у которых было диагностировано развитие РН только до I стадии, показатель ВПА в крови был достоверно ниже значений

в контрольной группе ($p < 0,05$) и составил в среднем $1573,59 \pm 153,0$ у.е. (табл. 1). При этом значения ВПА крови у данных пациентов были ниже контрольных в 59,0 % случаев, выше – в 18,3 % случаев, и не отличались от контроля в 22,7 % случаев.

Прогрессирование РН до II стадии установили у новорожденных младенцев с обнаруженным в крови показателем ВПА, составившим в среднем $1721,9 \pm 182,1$ у.е., что статистически значимо ниже сравнительно с показателем в контроле ($p < 0,05$). Причем у данных пациентов более чем в половине случаев (54,5 %) этот показатель был в пределах нормы, в более трети случаев (36,3 %) – пониженным и лишь в одном случае (9,2 %) его значения оказались повышенными.

У младенцев с прогрессированием РН до III стадии значения среднего показателя ВПА в крови не имели различий с контролем. При этом у двух пациентов показатель ВПА в крови был в 2 раза ниже по сравнению с показателем в контрольной группе. У троих младенцев были определены значения в пределах и у одного – выше среднего значения в контроле.

Развитие ЗАРН происходило на фоне наиболее пониженных показателей ВПА в

крови, среднее значение которого было в 1,7 раза ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Следует отметить, что у одного пациента с наиболее тяжелым и агрессивным течением заболевания показатель ВПА в крови был крайне сниженным и составил 223 у.е. В целом у всех новорожденных, имевших на 3–4 неделе жизни пониженные показатели ВПА в крови, наблюдали развитие РН I стадии в 61,9 % случаев (13 детей), II–III стадии – у 28,6 % (6 младенцев) и задней агрессивной формы – у 9,5 % (2 младенца).

Следующим этапом у младенцев исследуемых групп было проведено изучение частоты сопутствующей соматической патологии, которая, несомненно, является одним из факторов развития и прогрессирующего течения ретинопатии недоношенных.

Как видно из данных представленной таблицы 2, в целом в группе детей с диагностированной РН, чем в контрольной, в 1,5 раза чаще выявлялись заболевания органов дыхания (76,7 % против 50,0 %, $p < 0,05$). При этом у младенцев с ЗАРН, сравнительно с контролем, отмечали достоверно большую частоту встречаемости заболеваний органов кровообращения (100,0 % против 35,0 %, $p < 0,05$).

Таблица 1. Показатель внеклеточной пероксидазной активности крови при различных стадиях ретинопатии недоношенных и в контроле

Уровень ВПА в сыворотке крови, у.е.				
РН I стадия (n = 22)	РН II стадия (n = 11)	РН III стадия (n = 6)	ЗАРН (n = 4)	Контроль (n = 20)
$1573,59 \pm 153,0$ *	$1721,09 \pm 182,1$ *	$1722,83 \pm 315,4$	$1248,0 \pm 378,7$ *	$2110,6 \pm 77,6$

Примечание: * – различие с контролем статистически значимо ($p < 0,05$).

Таблица 2. Частота сопутствующей соматической патологии в исследуемых группах, %

Сопутствующая соматическая патология	Контроль, n=20		КРН по стадиям						ЗАРН, n=4		Всего детей с РН, n=43	
			I, n=22		II, n=11		III, n=6					
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Органов дыхания	10	50,0	15	68,2	9	81,8	5	83,3	4	100,0	33	76,7*
ЦНС	11	55,0	16	72,7	8	72,7	4	66,6	4	100,0	32	74,4
Органов брюшной полости	7	35,0	8	36,3	5	45,4	-	-	-	-	13	30,2
Органов кровообращения	7	35,0	5	22,7	5	45,4	3	50,0	4	100,0 *	17	39,5
ЗВУР	6	30,0	7	31,8	3	27,2	-	-	-	-	10	23,2
Гемотрансфузия	2	10,0	2	9	3	27,2	2	33,3	1	25,0	8	18,6

Примечание: ЦНС – центральная нервная система, ЗВУР – задержка внутриутробного развития; * – различие с контролем статистически значимо ($p < 0,05$); n – число детей.

Выводы

1. Проведенные исследования внеклеточной пероксидазной активности в сыворотке крови у 3-4 недельных недоношенных новорожденных показали, что у 48,8 % младенцев с пониженными его значениями происходило развитие той или иной клинической формы ретинопатии недоношенных. У большинства (61,9 %) из них развилась I стадия, почти у трети (28,6 %) наблюдалось прогрессирование до II–III стадии, в меньшем числе случаев диагностировали (9,5 %) заднюю агрессивную форму заболевания.

2. Сниженные значения внеклеточной пероксидазной активности в крови (функциональная нейтрофильная недостаточность) недоношенных новорожденных младенцев на 3–4

неделе жизни сопровождались развитием сопутствующей соматической патологии органов дыхания, что может служить критерием риска развития ретинопатии недоношенных, особенно при наличии патологии кровообращения, и требует динамического наблюдения, персонализированного подхода к лечению.

3. Определение активности внеклеточных пероксидаз в сыворотке крови у младенцев, родившихся недоношенными с патологией органов дыхания и кровообращения, может быть использовано в практической работе врачей, как доступный недорогостоящий метод оценки несостоятельности антиоксидантной защиты и выявления детей с риском развития ретинопатии недоношенных.

10.09.2015

Список литературы:

1. Абсаликова Д.К. Обоснование комбинированной системной нестероидной противовоспалительной и антиоксидантной терапии эндогенных увеитов: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Москва, 2012. – 130 с.
2. Азнабаева Л.Ф., Кильсенбаева Ф.А., Арефьева Н.А. Способ определения пероксидазной активности в биологических жидкостях. Патент РФ на изобретение № 2180114, от 27.02.2002 г. (Приоритет от 13.10.2000 г.).
3. Асташева И.Б., Кан И.Г., Дегтярев Д.Н., Дегтярева А.В. Особенности развития и течения ретинопатии недоношенных при использовании новых подходов к респираторной терапии на этапе первичной реанимации новорожденных // Вестник ОГУ. – 2014. – №12. – С. 17 – 19.
4. Гильманова В.Г. Прогнозирование течения и терапия бактериальных конъюнктивитов у детей: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Красноярск, 2012. – 122 с.
5. Катаргина Л.А., Коголева Л.В. Ретинопатия недоношенных. В кн.: под ред. Нероева В.В. Избранные лекции по детской офтальмологии. – М., «ГЭОТАР – Медиа». – 2009, ч. 2. – С. 27 – 61.
6. Мухамедьянова А.Ш. Клинико-иммунологические критерии прогнозирования течения и тактика лечения возрастной макулярной дегенерации: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Челябинск, 2008. – 115 с.
7. Николаева Г.В. Анализ факторов риска развития ретинопатии у недоношенных детей в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных // Российская педиатрическая офтальмология. – 2010. № 3. – С. 21 – 22.
8. Терехина Н.А., Петрович Ю.А. / Лабораторное дело. – 1990. – № 2. – С. 13 – 18.
9. Хватова А. В., Катаргина Л. А. Ретинопатия недоношенных. Наследственные и врожденные заболевания сетчатки и зрительного нерва // Под редакцией А. М. Шамшиновой. М.: Медицина, 2001. — С. 385 – 418.
10. Cole C. Making Sense of Clinical Determinants of Retinopathy of Prematurity / J. Pediatr. – 2010. – Vol. 157, № 1. – P. 5 – 7.
11. Ellsbury D.L., Ursprung R. Comprehensive oxygen management for the prevention of retinopathy of prematurity: the pediatric experience // Clin. Perinatol. – 2010. – Vol. 37, № 1. – P. 203 – 215.
12. Garg U., Jain A., Singla P. et al. Free Radical Status in Retinopathy of Prematurity / Ind. J. Clin. Biochem. – 2012. – Vol. 27, № 2. – P. 196 – 199.
13. Li S.Y., Fu Z.J., Lo A.C. Hypoxia-induced oxidative stress in ischemic retinopathy // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2012. – 10 pp.
14. Lee J.W., Davis J.M. Future applications of antioxidants in premature infants // Curr Opin Pediatr. — 2011. — Vol. 23, №2. — P. 161-166.
15. The classification of retinopathy of prematurity revisited // Arch. Ophthalmol. – 2005. – Vol. 123. – P. 991 – 999.
16. Loui A., Raab A., Maier R.F., et al. Trace elements and antioxidant enzymes in extremely low birthweight infants / J. Trace Elem. Med. Biol. – 2010. – Vol. 24, № 2. – P. 111-118.

Сведения об авторах:

Зайнутдинова Гузель Халитовна, заведующая отделением восстановительной хирургии глаза у детей Уфимского НИИ глазных болезней АН РБ, доктор медицинских наук

Азнабаева Лилия Фаритовна, профессор кафедры оториноларингологии Башкирского государственного медицинского университета, доктор медицинских наук, 450005, г. Уфа, ул. Ленина, 3

Файзуллина Алия Салаватовна, заочный аспирант Уфимского НИИ глазных болезней АН РБ, 450092, г. Уфа, ул. Авроры, 14, e-mail: a.fazullina@mail.ru