

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Український центр наукової медичної інформації
і патентно-ліцензійної роботи

«УЗГОДЖЕНО»

Директор Департаменту
материнства, дитинства та
санаторного забезпечення

МОЗ України



Р.О.Моїсеєнко

03. 2010 р.

**Неінвазивний метод діагностики дихальних
розладів легеневого походження у новонароджених
при критичних станах
(методичні рекомендації)**

Київ

2010

Установи-розробники:

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л.Шупика
Буковинський державний медичний університет МОЗ України

Автори:

Ященко Юрій Борисович – д.мед.н., професор кафедри неонатології
Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л.Шупика,
(044) 5764149

Буряк Олександр Григорович – магістр медицини, асистент кафедри
пропедевтики дитячих хвороб Буковинського державного медичного
університету, (0372) 579922

Рецензент:

Старець Олена Олександрівна – д.мед.н., професор кафедри
пропедевтичної педіатрії Одеського державного медичного університету

Головний спеціаліст зі спеціальності «Неонатологія» МОЗ України
д.мед.н., професор Є.Є. Шунько

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АОЗ	- антиоксидантний захист
АФК	- активні форми кисню
КПВ	- конденсат повітря, що видихається
МДА	- малоновий диальдегід
ПОБ	- пероксидне окиснення білків
ПОЛ	- пероксидне окиснення ліпідів
ДН	- дихальна недостатність
ШВЛ	- штучна вентиляція легень
NO	- оксид азоту
ONOO ⁻	- пероксинітрит

ЗМІСТ

Вступ.....	5
Діагностика окисного стресу та нітродергічного дисбалансу у новонароджених при критичних станах	9
Методика збору конденсату повітря, що видихається у новонароджених в умовах відділення інтенсивної терапії.....	11
Технологія дослідження показників інтенсивності окисної модифікації білків, процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантної системи в легeneвих експіратах.....	12
Технологія дослідження метаболітів оксиду азота в легeneвих експіратах.....	14
Вміст метаболітів оксиду азоту в легeneвих експіратах у новонароджених з дихальними розладами при критичних станах...	14
Стан окисної модифікації білків, пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у новонароджених з дихальною недостатністю при критичних станах.....	15
Діагностична значимість показників легеневого нітродергічного дисбалансу та окисного стресу у новонароджених з дихальною недостатністю паренхіматозного типу при критичних станах.....	16
Показання до застосування методичних рекомендацій.....	19
Висновки.....	20
Перелік рекомендованої літератури.....	22

Вступ

У методичних рекомендаціях наведена інформація про несприятливий вплив підвищення інтенсивності процесів пероксидного окиснення білків та процесів ліпопероксидації на стан тяжкості новонароджених з дихальними розладами при критичних станах.

У неонатальній практиці відділень інтенсивної терапії новонароджених дихальна недостатність (ДН) є однією з найбільш частих клінічних супутників критичних станів у новонароджених різного генезу. Недивлячись на значний розвиток технологій лікування ДН у новонароджених впродовж останніх десятиріч, проблема дихальних розладів у новонароджених залишається актуальною. Це пов'язано як з труднощами в діагностиці причин неонатального респіраторного дистресу, відсутністю специфічних характерних клінічних симптомів основних нозологічних форм, які призводять до респіраторних розладів, так і з розвитком ДН у новонароджених на фоні іншої, позалегеневої патології, що утруднює не тільки своєчасну діагностику, але й призводить до запізненого початку етіотропного лікування.

Актуальність діагностики причин респіраторних розладів у новонароджених важко переоцінити, оскільки дихальний дистрес супроводжує будь-який критичний стан навіть при відсутності первинного ураження легень. Зважаючи на те, що в останні роки в Україні серед основних причин захворюваності новонароджених четверте місце посідають дихальні розлади різноманітної етіології та оскільки дане захворювання складає основну частку смертності новонароджених на Україні (3,44 на 1 тис. новонароджених) сучасна неонатологія потребує нових методів діагностики, профілактики ускладнень та технологій інтенсивної терапії дихальних розладів у немовлят.

Згідно сучасних уявлень під терміном «дихальний дистрес» клінічно розуміють неспецифічний симптомокомплекс, який проявляється ціанозом, порушеннях ритму дихання, ретракцією та ін. Легеневе походження респіраторних розладів діагностують при рентгенологічному дослідженні органів грудної клітки на підставі специфічних рентгенологічних ознак. Проте в більшості випадків, особливо на початкових стадіях розвитку дихальних

розладів легеневого походження, рентгенологічна картина паренхіматозного легеневого ушкодження запізнюється порівняно з клінічною. Тому вирішення проблеми ранньої діагностики респіраторного дистресу свідчить про доцільність пошуку нових критеріїв діагностики дихальних розладів за легеним типом, які повинні включати імунні, біохімічні та клітинні характеристики. Це підтверджується також тим, що патофізіологічною основою розвитку гіпоксемії при паренхіматозній ДН є порушення легеневого газообміну внаслідок кризи легеневої мікроциркуляції, яка розвивається на тлі ендотеліальної дисфункції, активації процесів пероксидного окиснення білків (ПОБ) та ліпідів (ПОЛ) із залученням реакції клітинної кооперації.

Дослідження останніх років патогенетичних ланок розвитку ДН показують, що серед основних ушкоджуючих факторів легенів у хворих при критичних станах слід в першу чергу виділити окисний стрес з розвитком ендогенної інтоксикації. Окисний стрес формується в умовах неконтрольованої генерації АФК. Під цим терміном поєднують активні кисневмісні сполуки, що утворюються в результаті східчастого одноелектронного відновлення молекулярного кисню і ряду інших реакцій (супероксидний радикал – O_2^- , гідроксильний радикал – OH^\cdot , оксид азоту NO , пероксидний радикал – RO^\cdot , пероксинитрит – $ONOO^-$, пероксид водню – H_2O_2 , синглетний кисень). У закордонній науковій літературі для таких сполук більш розповсюджений термін «реакційноздатні форми кисню».

Оксид азоту є найбільш вивченим серед вільних радикалів. Підвищений інтерес до оксиду азоту зумовлений тим, що він має причетність до регуляції судинного тону, серцевої скоротливості, агрегації тромбоцитів, нейротрансмісії, синтезу макроергічних субстанцій та білків, імунного захисту. Проте, на сьогодні залишаються неясними механізми, в результаті яких роль молекул оксиду азоту змінюється від захисної до пошкоджуючої. Можливо це пов'язано із здатністю NO до взаємодії з супероксидним аніоном, наслідком чого є утворення пероксинітриту – агресивної сполуки щодо пероксидного ушкодження.

Різноманітні клітинні ефекти NO (розслаблення клітин гладенької мускулатури і ін.) запускаються при зв'язуванні NO з гемвмісним ферментом гуанілатциклазою. Встановлено, що NO швидко реагує з гемоглобіном еритроцитів, утворюючи метгемоглобін і аніон NO_2^- (нітрити) і NO_3^- (нітрати). Також, в умовах окисного стресу є другий шлях метаболізма NO, який пояснює цитотоксичність NO – взаємодія з супероксидним аніоном (O_2^-) з утворенням пероксинітриду, яка призводить до утворення гідроксирадикала (OH \cdot). Вважають, що саме з ONOO \cdot пов'язана ушкоджуюча дія оксиду азоту на біологічні макромолекули, перш за все, на білки та ліпіди.

За підтримку концентрації активних форм кисню (АФК) на стаціонарному, безпечному фізіологічному рівні відповідає система антиоксидантного захисту. Вона включає антиоксидантні ферменти, низькомолекулярні антиоксиданти, специфічні білки та ін. Основна частина системи антиоксидантного захисту легень сконцентрована в рідині, яка покриває епітелій респіраторного тракту. Порушення функціонування антиоксидантів призводить до зростання продукції активних форм кисню. Висока реакційна здатність АФК надає можливість останнім незворотно пошкоджувати біологічні молекули, що призводить до розвитку патологічного процесу.

Донедавна основна увага при вивченні ушкоджуючої дії АФК приділялася ліпідам. За останні 10 років істотно зріс інтерес дослідників до вивчення механізму впливу АФК на білки. Це цілком зрозуміло, оскільки добре відома виняткова функціональна роль білків у всіх живих організмах. Функціональна активність білків пов'язана, як правило, з унікальною структурою локальних ділянок, наприклад, активних центрів ферментів. До складу таких ділянок входять найбільш реакційноздатні амінокислотні залишки, котрі у силу цього модифікуються АФК у першу чергу. Тому інактивація білків відбувається практично з їх модифікацією. Цей факт набуває особливого значення для хворих в критичному стані, коли фактор часу стає одним із вирішальних. Модифікація амінокислотних залишків у білках (тобто модифікація на рівні первинної структури) призводить в наступному до

глибоких змін білкової структури. Це проявляється агрегацією та фрагментацією модифікованих білків. Наслідком цих структурних ушкоджень є різке підвищення чутливості білків до протеолітичної деградації. Так, швидкість протеолітичного розчеплення ОН-модифікованих білків протеазами еритроцитів, ретикулоцитів або бактеріальних клітин підвищується в 50 разів. Тому процеси окисної модифікації білків повинні знаходитися під постійним лабораторним моніторингом.

Імуно-біохімічне дослідження легневих експіратів є новим та перспективним методом діагностики запального процесу та окисного статусу дихальної системи. З методологічної точки зору вивчення конденсату повітря, що видихається (КПВ) можна розцінити як практично єдиний доступний спосіб для всебічного дослідження мікросередовища та граничних мембран аерогематичного бар'єру. Застосування КПВ в неонатальній практиці є досить актуальним, особливо серед дітей, у яких обмежена можливість проведення дослідження крові в зв'язку з інвазивністю існуючих методик, а з іншого боку – з великою кількістю крові необхідної для дослідження в порівнянні із загальним об'ємом циркулюючої крові у новонародженої дитини (80 мл/кг ваги дитини).

Ученими Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л.Шупика та Буковинського державного медичного університету здійснені експериментальні та клінічні наукові дослідження по вивченню в КПВ інтенсивності процесів ПОБ та ПОЛ у новонароджених при критичних станах. На підставі нашого досвіду застосування неінвазивних методик діагностики та прогнозу тяжкості дихальної недостатності у новонароджених при критичних станах пропонуються зазначені практичні рекомендації.

Методичні рекомендації розраховані на лікарів-неонатологів, лікарів-анестезіологів відділень інтенсивної терапії новонароджених.

Діагностика окисного стресу та нітроксергічного дисбалансу у новонароджених при критичних станах

Особливу групу ризику щодо розвитку вільнорадикальних уражень складають новонароджені діти, яким притаманна фізіологічна недостатність систем антиоксидантного захисту. Серед дезадаптаційних синдромів раннього неонатального віку 60-70% припадає на респіраторні порушення, які можуть розвиватися на тлі морфофункціональної незрілості, гіпоксично-ішемічних уражень новонароджених та ін. Лікувальна тактика новонароджених дітей даної групи вимагає застосування високих концентрацій кисню під час проведення первинних реанімаційних заходів, тривалої дотації кисню під час проведення подальшої підтримуючої терапії, що формує несприятливий фон щодо ініціації розвитку окисного стресу та формування патофізіологічних змін на рівні альвеолокапілярних мембран (рис. 1).

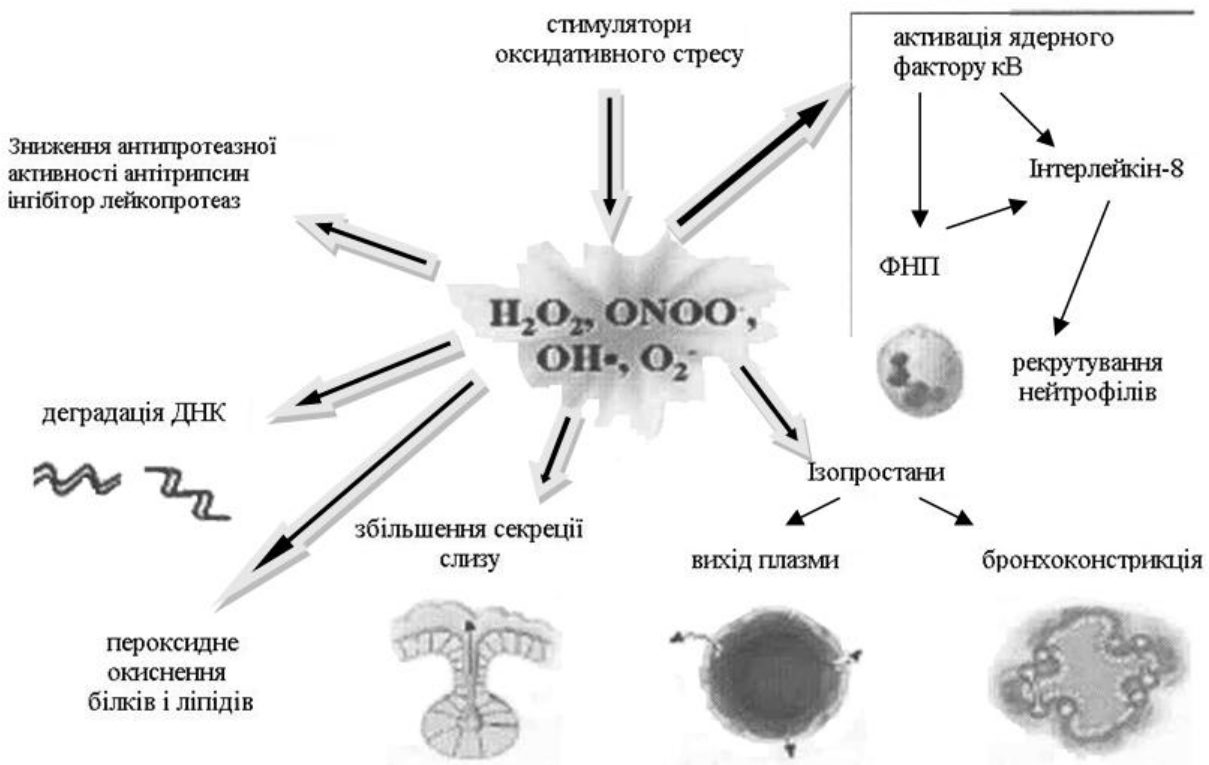


Рисунок 1. Оксидативний стрес у легенях

Метою запропонованих методичних рекомендацій є покращення діагностики дихальної недостатності паренхіматозного типу у новонароджених

за умов застосування методик визначення зміни біохімічних показників у легневих експіратах, а саме: показників оксидантно-прооксидантної системи та напруженості антиоксидантної системи, нітроксергічного дисбалансу при критичних станах.

Мета рекомендацій досягається шляхом використання КПВ в якості біологічного матеріалу для дослідження напруженості оксидантно-прооксидантної системи та нітроксергічного дисбалансу у новонароджених, які знаходяться на штучній вентиляції легень.

У світовій літературі конденсат повітря, що видихається викликає особливий інтерес для використання його, як біологічного матеріалу для біохімічних досліджень. В чому ж унікальність даної методики?

Конденсат повітря, що видихається – це середовище, яке відображає варіанти біохімічної індивідуальності в нормі і при патології. На теперішній час імуно-біохімічне дослідження легневих експіратів дає можливість ідентифікувати у КПВ понад 200 хімічних сполук. Склад повітря, що видихається, і крові взаємозв'язані, що дозволяє у деяких випадках відмовитися від досліджень крові і проводити оцінку концентрації цих речовин в експіраті. Діагностичні можливості КПВ підтверджуються і тим, що концентрації бронхоальвеолярних речовин в ньому і в легневій тканині змінюються однонаправлено (рис. 2).

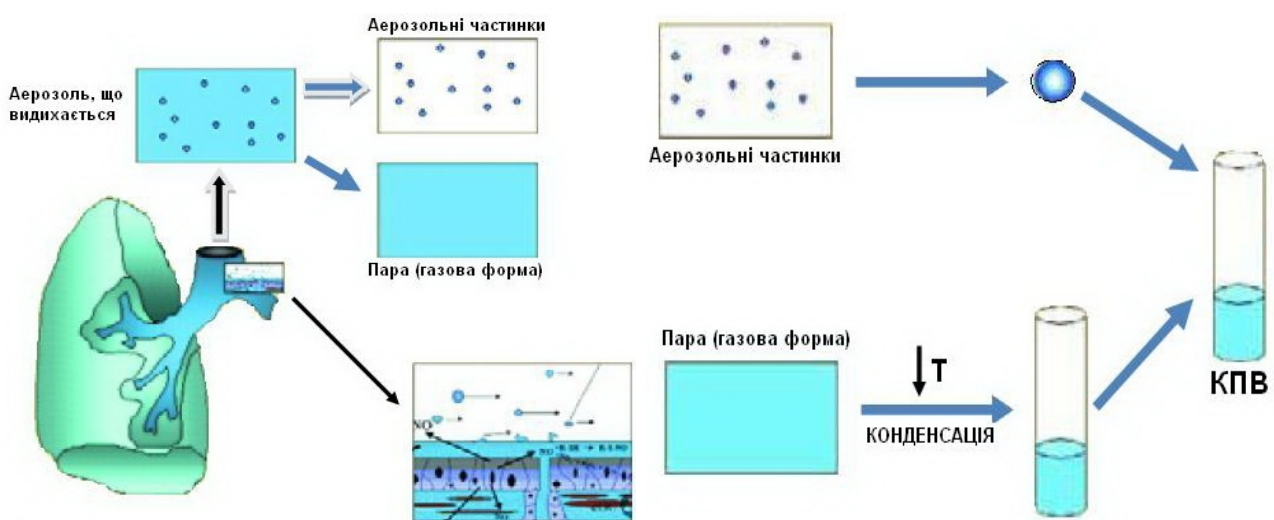


Рисунок. 2. Схема утворення конденсату повітря, що видихається

Виходячи з вищенаведеного визначення пероксидного окиснення білків та ліпідів в КПВ дає важливу інформацію про окисний стрес в бронхоальвеолярному просторі. Дослідження у КПВ показників окисного стресу (вивчення інтенсивності процесів пероксидного окиснення білків та ліпідів) та нітроксидергічного дисбалансу (вміст метаболітів оксиду азота) серед дітей групи ризику щодо виникнення легеневих ускладнень запального характеру дозволить діагностувати легеневе ушкодження на ранніх стадіях.

Методика збору конденсату повітря, що видихається у новонароджених в умовах відділення інтенсивної терапії

Методика збору конденсату досить проста. Біологічні молекули потрапляють до легеневого експірату з бронхіального та альвеолярного аерозолей, які формуються при випаровуванні рідини, що прилягає до епітеліальної альвеолярної вистилки. Легеневий експірат у новонароджених в умовах відділення інтенсивної терапії, які знаходяться на керованій механічній вентиляції легень, збирають з дихального контуру апарату штучної вентиляції легень на видиху (рис. 3).

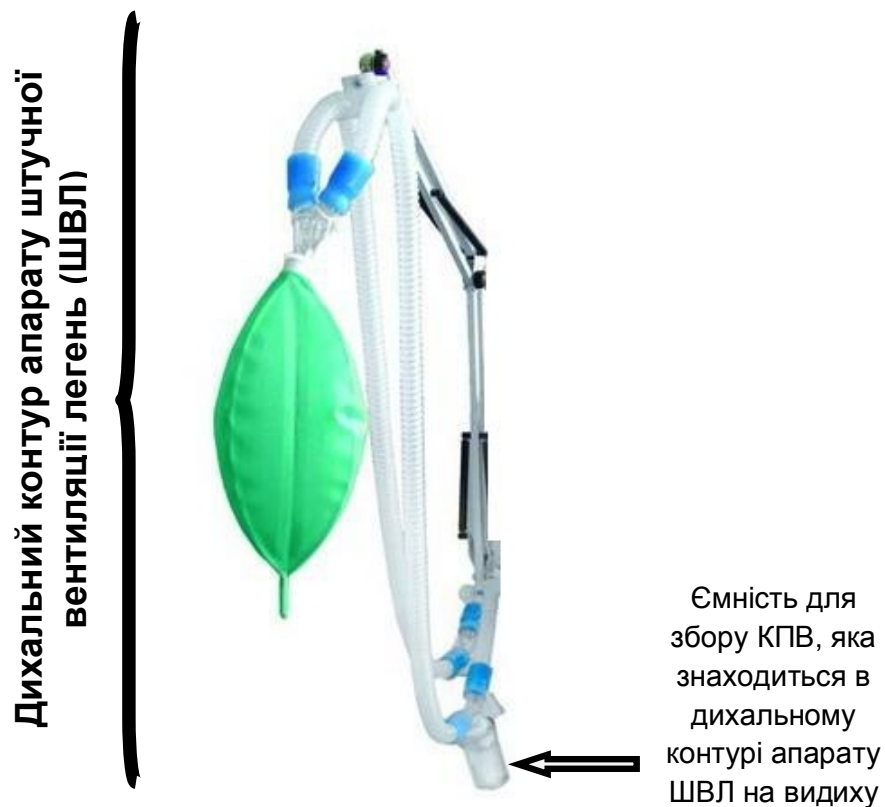


Рисунок 3. Схема збору легеневого експірату у новонароджених, які знаходяться на штучній вентиляції легень

Технологія дослідження показників інтенсивності окисної модифікації білків, процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантної системи в легневих експіратах

Окисна модифікація білків вивчається методом спектрофотометричного аналізу карбонільних груп, що утворюються при взаємодії АФК із залишками амінокислот із використанням 2,4-динітрофенілгідразину. Дослідження окисної модифікації білків включає визначення альдегідо- і кетонітротичних динітрофенілгідрозонів основного (при довжині хвилі 430 нм) та нейтрального (при довжині хвилі 370 нм) характеру у легневому експіраті. Рівень карбонільних груп розраховують при використанні коефіцієнту молярної екстинції $21000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Розрахунки, для визначення окисної модифікації білків основного характеру (довжина хвилі 430 нм), проводять за формулою 1.

Формула 1

$$ПОБ_{430} = \frac{E_{430} \times 10}{\text{білок по Лоурі (г/л)}} \times 1000$$

Розрахунки, для визначення окисної модифікації білків нейтрального характеру (довжина хвилі 370 нм), проводять за формулою 2.

Формула 2

$$ПОБ_{370} = \frac{E_{370} \times 10}{\text{білок по Лоурі (г/л)}} \times 21$$

Оцінка стану ПОЛ проводиться за визначенням вмісту продуктів ліпопероксидації – малонового діальдегіду, а також за оцінкою стану ферментів антиоксидантного захисту – каталази.

Принцип методу визначення малонового діальдегіду (МДА) полягає у здатності тіабарбітурової кислоти вступати в реакцію з ліпополісахаридами, вуглеводами, проте основним продуктом цієї взаємодії є МДА. Оптична густина E_{532} вимірюється спектрофотометрично в 1 см кюветі. Розрахунки проводять за формулою 3.

При визначенні активності каталази досліджують здатність пероксиду водню утворювати із солями молібдену стійкий забарвлений комплекс, після

чого спектрофотометрично вимірюють оптичну густина розчину ($E_{410\text{-хол.}}$ та $E_{410\text{-досл.}}$) та порівнюють її з контролем (дистильована вода) в 1 см кюветі. Активність каталази розраховують по формулі 4.

Формула 3

$$MDA = \frac{E_{532}}{E_{750}} \times 0,759, \text{ де}$$

E_{532} – екстинція малонового диальдегіду;

E_{750} – екстинція білка по Лоурі;

0,759 – коефіцієнт перерахунку для малонового диальдегіду.

Формула 4

$$KT = \frac{(E_{410\text{hol}} - E_{410\text{d}})}{E_{750}} \times 15.536, \text{ де}$$

$E_{410\text{hol}}$ – екстинція холостої проби;

$E_{410\text{d}}$ – екстинція дослідної проби;

E_{750} – екстинція білка по Лоурі;

15,536 – коефіцієнт перерахунку для каталази (з калібрувальної кривої).

Як видно з наведених вище формул для проведення розрахунків при визначенні окисної модифікації білків, стану ПОЛ та АОЗ нам необхідне кількісне визначення білка за Лоурі.

Принцип визначення ґрунтується на утворенні біуретонного комплексу (пептидного зв'язку білка та міді), який у присутності фенольного реактиву Фоліна дає синє забарвлення, інтенсивність якого пропорційна до вмісту білка. Екстинцію (E_{750}) білка вимірюють в кюветі 5 мм. Проте, якщо для формул 3 та 4 нам достатньо визначити екстинцію білка, то для формул 1 та 2 нам необхідно виконати перерахунок з екстинції на г/л. Розрахунки проводять за формулою 5.

Формула 5

$$BL = E_{750} \times 236,2, \text{ де}$$

E_{750} – екстинція білка по Лоурі;

236,2 – коефіцієнт перерахунку для білка по Лоурі.

Технологія дослідження метаболітів оксиду азоту в легеневих експіратах

Сумарний вміст метаболітів оксиду азоту в легеневих експіратах – нітрат-аніону (NO_3^-) та нітрит-аніону (NO_2^-), визначають методом фотометрії, використовуючи реактив Грейса (розчин сульфаніламідів та N-нафтилетилендіаміндігідрохлорид у 30% крижаній оцтовій кислоті), який використовують в якості кольорового реагенту, що дає малинове забарвлення за наявності метаболітів оксиду азоту в рідині.

Вміст метаболітів оксиду азоту в легеневих експіратах у новонароджених з дихальними розладами при критичних станах

Проведене дослідження вмісту метаболітів оксиду азоту у новонароджених з тяжкою ДН показало збільшення рівню метаболітів NO в легеневих експіратах серед новонароджених з тяжкою ДН порівняно із здоровими новонародженими ($1,94 \pm 0,1$ мкмоль/л проти $1,2 \pm 0,2$ мкмоль/л, $p < 0,05$). Згідно із сучасними уявленнями щодо патогенетичних ланцюгів розвитку синдрому, підвищення ендогенного синтезу оксиду азоту можна розцінювати як захисну реакцію організму дитини, що виникає внаслідок впливу прозапальних цитокінів, ендотоксинів та оксидантів на індукцибельну NO-синтазу.

Методом кореляційного аналізу встановлений достовірний корелятивний зв'язок між показниками вмісту метаболітів оксиду азоту та пероксидним окисненням білків в конденсаті повітря, що видихається ($r = -0,221$, $p = 0,039$), що вказує на участь оксиду азоту в процесах оксидації білків. Зменшення рівню метаболітів оксиду азота в КПВ в умовах підвищеної окисної модифікації (наявність від'ємного кореляційного зв'язку між даними показниками) може свідчити про залучення NO до процесу окисної модифікації білків внаслідок його метаболічного перетворення до пероксинітриту, із токсичною дією якого пов'язано ушкодження біологічних мембран.

Таким чином, у новонароджених з дихальними розладами, як показали наші дослідження, відмічається утворення в легенях АФК, що в свою чергу

призводить до розвитку окисного стресу з подальшим запуском процесів пероксидації.

Стан окисної модифікації білків, пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у новонароджених з дихальною недостатністю при критичних станах

При проведенні дослідження процесів ПОБ у легеневих експіратах в групі дітей з дихальною недостатністю рівень білкових карбонілів склав $2,16 \pm 0,09$ ммоль/г білка, що в двічі більше проти групи практично здорових дітей ($1,15 \pm 0,08$ ммоль/г білка, $p < 0,001$).

Отримані результати дослідження показують, що у новонароджених із ДН відмічається підвищення рівня окисної модифікації білків в КПВ. Це співпадає з даними літератури, які свідчать про підвищення показників ПОБ у хворих при критичних станах та підтверджує розвиток у цих дітей порушень структури білкових молекул альвеолокапілярного комплексу.

При проведенні дослідження ПОЛ в КПВ серед новонароджених з тяжкою дихальною недостатністю було зареєстровано статистично достовірне зростання показників процесів ліпопероксидації (рівень МДА збільшений більш ніж у 2 рази порівняно з групою контролю ($1,31 \pm 0,06$ проти $0,6 \pm 0,03$ нмоль/мг білка відповідно, $p < 0,001$), що свідчить про пошкодження структури ліпідів на рівні аерогематичного бар'єру.

Дослідження змін ферментативної ланки антиоксидантної системи у дітей з тяжкою ДН показують перевищення рівня каталази майже в три рази у КПВ порівняно із здоровими дітьми ($25,95 \pm 1,63$ проти $9,51 \pm 0,94$ мкмоль/хв·мг білка відповідно, $p < 0,001$), що обумовлено, на нашу думку, надлишком утворення продуктів ПОЛ в легенях у новонароджених з ДН при критичних станах.

Також аналізуючи дані власних досліджень та досліджень різних авторів про те, що саме білки першими реагують на окисний стрес і по мірі прогресування основного захворювання потім виникає пероксидне окиснення ліпідів, був встановлений достовірний корелятивний зв'язок у дітей з дихальними розладами між показниками вмісту білкових карбонільних груп та

малонового діальдегіду ($r=0,453$, $p=0,000$), що певною мірою вказує про участь ПОБ у запуску ПОЛ у новонароджених при критичних станах, які супроводжуються дихальними розладами, а також про те, що ці процеси відбуваються односпрямовано.

При наростанні активності ПОБ та ПОЛ у новонароджених з ДН відбувається запуск АОЗ (за показниками каталази), що підтверджується наявністю достовірних корелятивних зв'язків між показниками ПОБ та АОЗ ($r=0,350$, $p=0,003$).

Таким чином, тяжка ДН у новонароджених при критичних станах супроводжується утворенням в легенях продуктів ПОБ та ПОЛ, що за умов порушення функціонування антиоксидантної системи та/або її виснаження призводить до різноманітних порушень ланцюгів гомеостазу та створює підґрунтя для механізмів реалізації окисного стресу. Отримані нами дані співпадають з дослідженнями інших авторів, які також вказують на зростання рівня ферментативної активності антиоксидантної системи у відповідь на посилення процесів пероксидації в організмі.

Діагностична значимість показників легеневого нітроксидаційного дисбалансу та окисного стресу у новонароджених з дихальною недостатністю паренхіматозного типу при критичних станах

За даними наших досліджень, чутливість діагностичного тесту визначення метаболітів оксиду азоту в легневих експіратах (рівень метаболітів оксиду азоту в КПВ > 2 мкмоль/л) у діагностиці паренхіматозної ДН в новонароджених складає 70,5%, а специфічність – 88,8%. При збільшенні в КПВ рівнів метаболітів NO вище даної діагностичної межі (2 мкмоль/л) відносний ризик наявності запального процесу в легенях, за даними нашого дослідження, становить 3,2, а показник відношення шансів – 19,2. Отримані результати щодо діагностичної значимості даного діагностичного тесту (вміст метаболітів NO у КПВ більше ніж 2 мкмоль/л) у діагностиці паренхіматозної можна вважати вірогідними, що підтверджується довірчими інтервалами

показників відносного ризику та відношення шансів – 95%ДІ: 0,5-23,0 та 95%ДІ: 6,3-58,1 відповідно.

Справжньо позитивний результат даного тесту в діагностиці легеневого ушкодження у новонароджених при критичних станах із тяжкою дихальною недостатністю становить 6,35, справжньо негативний – 0,3.

Атрибутивний ризик ДН легеневого походження у новонароджених за умов збільшення в конденсаті повітря, що видихається метаболітів оксиду азоту більше ніж 2,0 мкмоль/л становить 60,5% (95%ДІ: 45,0-76,0). Аналізуючи показник атрибутивного ризику можна стверджувати, що серед новонароджених дітей з тяжкою ДН за умов підвищення в легеневому експіраті метаболітів NO понад 2,0 мкмоль/л, у кожного другого дихальна недостатність зумовлена ураженням легеневої тканини (95%ДІ: 1,31-2,21).

Таким чином, вивчення метаболізму оксиду азоту в новонароджених з дихальною недостатністю легеневого походження, як показали наші дослідження, і збільшення їх вмісту в КПВ більше 2 мкмоль/л можна розглядати як діагностичний маркер ДН легеневого походження, а також для моніторингу та прогнозування клінічного перебігу ДН.

Зважаючи на достовірну відмінність в показниках окисного стресу та нітродисбалансу у КПВ серед новонароджених з тяжкою ДН порівняно з даними показниками у практично здорових дітей, проведено вивчення діагностичної значимості показників ПОБ, ПОЛ та рівню метаболітів NO в легневих експіратах для підтвердження ДН легеневого типу у новонароджених спираючись додатково на величину дотації дитини киснем (показник насичення киснем суміші, яка вдихається дитиною – FiO_2).

Чутливість та специфічність тесту діагностики паренхіматозної ДН у новонароджених при критичних станах за показниками вмісту у легневих експіратах продуктів ПОБ (збільшення рівня карбонільних груп понад 2,3 ммоль/г білка), метаболітів NO (підвищення понад 2 мкмоль/л) за умов проведення респіраторної підтримки з FiO_2 понад 0,4 становлять 76,7%.

За умов проведення даного тесту відношення ймовірності отримання справжнього позитивного результату до ймовірності отримання хибно

позитивного результату тесту становить 3,3. У разі проведення запропонованого тесту відношення ймовірності отримання справжнього негативного результату до вірогідності отримання хибно негативного результату становить 0,3.

Абсолютний ризик у дитини ДН легеневого типу у разі підвищення у КПВ продуктів ПОБ та метаболітів NO вище вказаних діагностичних показників за умов дотації дитини киснем із концентрацією понад 40% становить 53,4% (95%ДІ: 35,0-71,0), відносний ризик – 3,3 (95%ДІ: 0,47-23,0), показник відношення шансів – 11 (95%ДІ: 4,0-29,6).

Чутливість тесту діагностики ДН легеневого типу у новонароджених при критичних станах за показниками вмісту у легневих експіратах продуктів ПОЛ (збільшення рівня малонового діальдегіду понад 1,3 нмоль/мг білка), метаболітів NO (підвищення понад 2 мкмоль/л) за умов проведення респіраторної підтримки з FiO_2 понад 0,4 становить 50%, а специфічність – 87%. При цьому справжньо позитивний результат даного тесту – 3,9, а справжньо негативний – 0,5.

При збільшенні в КПВ рівня МДА та метаболітів NO вище діагностичної межі за умов дотації киснем дитини понад 40% у вдихуваній суміші відносний ризик наявності запального процесу в легенях, за даними нашого дослідження, становить 2,4, а показник відношення шансів – 6,8. Отримані результати щодо діагностичної значимості даного діагностичного тесту (вміст метаболітів у КПВ більше ніж 2 мкмоль/л) у діагностиці паренхіматозної можна вважати вірогідними, що підтверджується довірчими інтервалами показників відносного ризику та відношення шансів – 95%ДІ: 0,3-16,8 та 95%ДІ: 2,1-21,8 відповідно. Абсолютний ризик у дитини ДН легеневого типу у разі підвищення у КПВ продуктів ПОЛ вище діагностичної точки становить 59,1% (95%ДІ: 42,1-76,2).

Чутливість тесту діагностики ДН легеневого типу у новонароджених при критичних станах за показниками активації антиоксидантної системи (збільшення в КПВ рівня каталази понад 25 мкмоль/хв·мг білка), вмісту у КПВ метаболітів NO (підвищення понад 2 мкмоль/л) за умов проведення респіраторної підтримки з FiO_2 понад 0,4 становить 48,8%, а специфічність –

96,8%. Справжньо позитивний результат даного тесту становить 15,6, справжньо негативний – 0,5.

Абсолютний ризик у дитини ДН легеневого типу у разі позитивності даного тесту підвищеної антиоксидантної активності КПВ за каталазою (понад продуктів ПОБ та метаболітів NO вище вказаних діагностичних показників за умов дотації дитини киснем із концентрацією понад 40% становить 54,8% (95%ДІ: 18,0-68,1), відносний ризик – 2,35 (95%ДІ: 0,3-16,0), показник відношення шансів – 29,5 (95%ДІ: 3,7-237,1).

Виходячи з вище наведеного, дослідження кількісних характеристик розвитку запального процесу в легенях з визначенням інтенсивності процесів окисної модифікації білків, ліпопероксидації, антиоксидантного захисту та нітросидергічного дисбалансу при дихальній недостатності дозволить отримати більш повну діагностичну характеристику синдрому, а дослідження динамічних змін у системах, які характеризують порушення гомеостазу новонародженої дитини, дозволить діагностувати ушкодження легень на ранніх стадіях його розвитку, що особливо актуально в даний час. Це дозволить:

- 1) своєчасно визначитися в тактиці ведення даної групи новонароджених;
- 2) проводити корекцію лікувальної програми дитини;
- 3) за необхідності біохімічно моніторувати систему легеневого гомеостазу, зміни якої більш чутливі в діагностиці синдрому ніж клінічні прояви дихальної недостатності, для визначення ефективності обраної стратегії лікування.

Показання до застосування

Показами для застосування даних методик, а саме дослідження конденсату повітря, що видихається та визначення в ньому показників процесів окисної модифікації білків, ліпопероксидації, антиоксидантного захисту та нітросидергічного дисбалансу є дихальна недостатність як легеневого так і позалегеневого походження у новонароджених при критичних станах.

При застосуванні даної методики протипоказання з боку дитини відсутні.

Висновки

Дослідження конденсату повітря, що видихається є новим та перспективним методом діагностики запального процесу та окисного статусу дихальної системи, а з методологічної точки – практично єдиним доступним способом всебічного дослідження мікросередовища та граничних мембран аерогематичного бар'єра.

Особливе значення дослідження легеневих експіратів може мати у неонатальній практиці. Це обумовлено неінвазивністю та доступністю отримання даного біосередовища для дослідження у новонароджених з тяжкою дихальною недостатністю, серед яких діагностика причини її розвитку є актуальною. Аналіз конденсату повітря, що видихається, особливо при порівнянні з іншими біосередовищами, дозволяє більш повно дослідити фізіологію дихання та патогенез розвитку захворювань органів бронхолегеневої системи.

Вивчення показників нітрокисдергічного дисбалансу та окисного стресу у новонароджених з тяжкою дихальною недостатністю за показниками вмісту в легеневих експіратах метаболітів оксиду азота та продуктів пероксидного окиснення білків та ліпідів має достатню діагностичну значимість у виявленні легеневого типу дихальних розладів серед немовлят при критичних станах. Результати вивчення чутливості та специфічності запропонованих діагностичних тестів у діагностиці легеневого походження дихальної недостатності свідчать про їх достатню діагностичну значимість, що надає можливості запобігання хибнопозитивності та хибнонегативності результатів при проведенні даних діагностичних тестів.

У разі підвищення у КПВ метаболітів оксиду азота понад 2 мкмоль/л на тлі тяжкого дихального дистресу шанс наявності у дитини з тяжким дихальним дистресом позалегеневої дихальної недостатності за умов її легеневого походження становить 1:3,3.

У разі одночасного застосування діагностичних тестів, зокрема таких: 1) збільшення рівня малонового диальдегіду понад 1,3 нмоль/мг білка, метаболітів NO понад 2 мкмоль/л за умов проведення респіраторної підтримки з FiO_2 понад

0,4; 2) збільшення рівня каталази понад 25 мкмоль/хв·мг білка, метаболітів NO понад 2 мкмоль/л за умов проведення респіраторної підтримки з F_iO_2 понад 0,4 – шанс наявності у дитини з тяжким дихальним дистресом позалегеневої дихальної недостатності за умов її легеневого походження становить 1:2.

Якщо у КПВ відмічається збільшення рівня карбонільних груп понад 2,3 ммоль/г білка, метаболітів NO понад 2 мкмоль/л за умов проведення респіраторної підтримки з F_iO_2 понад 0,4 шанс наявності у дитини з тяжким дихальним дистресом позалегеневої дихальної недостатності за умов її легеневого походження становить 1:3,3.

Перелік рекомендованої літератури

1. Буряк О. Г. Вільнорадикальне окиснення та нітроксидергічний дисбаланс у новонароджених з гострою дихальною недостатністю / О. Г. Буряк, Ю. Б. Яценко // *Здоров'є ребенка*. – 2009. – №3 (18). – С. 93-95.
2. Буряк О. Г. Дихальна недостатність у новонароджених при критичних станах. Діагностичні критерії, оцінка тяжкості стану (огляд літератури) / О. Г. Буряк // *Современная педиатрия*. – 2009. – № 5 (27). – С. 175-179.
3. Буряк О. Г. Значення пероксидного окиснення білків при дихальних розладах у новонароджених / О. Г. Буряк, Ю. Б. Яценко // *Здоров'є ребенка*. – 2009. – № 4 (19). – С. 106-108.
4. Буряк О. Г. Навколишнє середовище як можливий фактор розвитку різноманітних дихальних розладів у новонароджених / О. Г. Буряк // *Вікові аспекти схильності організму до шкідливого впливу ксенобіотиків : наук.-практ. конф., 18-19 вер. 2008 р. : тези допов.* – Чернівці, 2008. – С. 11-12.
5. Буряк О. Г. Стан процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту у новонароджених з постасфіктичним синдромом / О. Г. Буряк // *Розвиток наукової думки – 2008 : Всеукр. наук.-практ. конф., 10 жовт. 2008 р. : тези допов.* – Миколаїв, 2008. – С. 55-56.
6. Яценко Ю. Б. Біохімічні показники змін легеневого гомеостазу у новонароджених при критичних станах / Ю. Б. Яценко, О. Г. Буряк, Н. О. Татарчук // *Український медичний альманах*. – 2008. – Т. 11, № 2. – С. 231-232.
7. Яценко Ю. Б. Зміни нітроксидергічної системи у новонароджених із запаленням легенів / Ю. Б. Яценко, Л. В. Яценко, О. Г. Буряк // *Буковинський медичний вісник*. – 2007. – Т. 11, № 4. – С. 85-87.
8. Яценко Ю. Б. Нитроксидергические изменения у новорожденных при синдроме острого повреждения легких / Ю. Б. Яценко, А. Г. Буряк // *Пульмонология*. – 2009. – № 1. – С. 51-54.

9. Яценко Ю. Б. Обґрунтування антиоксидантної терапії в новонароджених з синдромом гострого ушкодження легенів / Ю. Б. Яценко, О. Г. Буряк // *Актуальні проблеми сучасної медицини.* – 2008. – Т. 8, № 4 (24), Ч. 1. – С. 189-190.
10. Яценко Ю. Б. Окисний стрес у новонароджених при критичних станах / Ю. Б. Яценко, О. Г. Буряк // *Медико-соціальні проблеми дитячого віку : наук.-практ. конф., 12-13 квіт. 2007 р. : тези допов.* – Тернопіль, 2007. – С. 24-25.
11. Яценко Ю. Б. Окисний та нітроксидергічний статус у новонароджених з гострою дихальною недостатністю / Ю. Б. Яценко, О. Г. Буряк // *Педіатрія, акушерство та гінекологія.* – 2008. – № 3. – С. 63.
12. Яценко Ю. Б. Стан пероксидного окиснення ліпідів і системи антиоксидантного захисту у новонароджених з тяжкою дихальною недостатністю / Ю. Б. Яценко, О. Г. Буряк // *Одеський медичний журнал.* – 2008. – № 5 (109). – С. 64-66.

РЕЄСТР

обов'язкової розсилки методичних документів

(відомчих інструкцій, методичних вказівок, методичних рекомендацій)

Назва: «Неінвазивний метод діагностики дихальних розладів легеневого походження у новонароджених при критичних станах»

№ п/п	Адресати	Кількість примірників одному адресатові	Загальна кількість примірників
1	2	3	4
1.	Лікувально-оздоровче об'єднання при Кабінеті Міністрів України (03133, м. Київ, вул. Верхня, 5)	1	1
2.	Відділ науки МОЗ України	1	1
3.	Науково-координаційне управління АМН України (02050, м. Київ, вул. Герцена, 12)	1	1
4.	Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи	2	2
5.	Державна наукова медична бібліотека	1	1
6.	Обласні наукові медичні бібліотеки України	1	25
7.	Профільні з проблеми НДІ		
8.	Наукові частини (ВНМІ) медичних вузів та академій післядипломної освіти	1	18
9.	Профільне управління МОЗ України	1	1
10.	Голова профільної ПК	1	1
11.	Головний спеціаліст МОЗ України	2	2
12.	Головний спеціаліст ОЗО	1	27
13.	Кафедра соціальної гігієни та організації охорони здоров'я (03191, Київ, вул. Якубовського, 6)		

Реєстр розсилки методичного документа, підписаний відповідальною особою, що його розіслала, та два примірники виданого методичного документа надсилаються в Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи для контролю та включення його у довідково-інформаційний фонд.

Директор Центру,
професор



В.І. Чебан