

© Коллектив авторов, 2004

*А. А. Андреева, И. И. Евсюкова, Т. И. Опарина, А. В. Арутюнян*

## **ПРОДУКЦИЯ ОКИСИ АЗОТА И СОСТОЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ У НОВОРОЖДЕННЫХ, ЗДОРОВЫХ И ПЕРЕНЕСШИХ ГИПОКСИЮ**

НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

Обследовано 416 новорожденных различного гестационного возраста (33—39 недель), из которых 143 ребенка перенесли гипоксию, а 273 были здоровы. Изучены особенности образования окиси азота (NO) с использованием метода суммарного определения нитратов и нитритов в моче и состояние центральной гемодинамики. Выявлено, что у новорожденных, перенесших гипоксию, значительно увеличивается продукция NO, степень которой зависит от продолжительности и тяжести гипоксии. Установлено, что у новорожденных в раннем неонатальном периоде происходит смена типов гемодинамики, что отражает адаптивные возможности ребенка, при этом NO играет существенную роль в регуляции гемодинамики как у здоровых детей, так и у новорожденных, перенесших гипоксию.

Authors examined 416 newborns with different age of gestation (33—39 weeks), including 143 patients with history of perinatal hypoxia and 273 patients as healthy control. Peculiarities of nitrogen oxide (NO) production were studied by determination of total nitrates and nitrites urinary excretion and by estimation of central hemodynamic state. Authors showed that NO production was significantly increased in neonates with history of hypoxia, and the degree of increasing was depended on hypoxia severity and duration. Authors proved that hemodynamic type was changed in early neonatal period, and this change reflected adaptive capacity of neonate. NO plays an important role in hemodynamic regulation both in healthy neonates and in neonates with history of perinatal hypoxia.

На протяжении последних десятилетий отмечается неуклонный рост числа детей с патологией нервной системы [2, 6, 10]. По данным ВОЗ, до 10% детей страдают нервно-психическими заболеваниями, 80% из которых имеют перинатальный генез. Это требует дальнейшего углубленного изучения отдельных звеньев патогенеза гипоксических состояний у новорожденных и разработки методов их профилактики и лечения.

Известно, что в механизмах адаптации к гипоксии и развития постреанимационной болезни существенная роль принадлежит окиси азота (NO) [11]. NO играет важную роль в обеспечении жизнедеятельности и развития плода в единой системе «мать—плацента—плод» [16, 17]. Как избыточная, так и недостаточная продукция NO может явиться причиной патологических сдвигов в организме. Избыточная продукция NO приводит к образованию токсичных продуктов, таких, как пероксинитрит ( $-ONOO$ ), гидроксирадикал ( $HO'$ ) — мощных инициаторов ПОЛ [7]. В то же время недостаточная продукция NO способствует формированию патологии фето-плацентарного комплекса и внутриутробной гипоксии плода [17, 19].

Данные литературы указывают на важное участие NO в регуляции сосудистого тонуса, что обеспечивает, прежде всего, кровоснабжение жиз-

ненно важных органов плода, их нормальное развитие и постнатальную адаптацию новорожденных [13].

В последние годы предпринимаются попытки применения доноров и ингибиторов продукции NO для лечения ряда патологических состояний [9, 18]. Однако их использование у новорожденных ограничено из-за отсутствия данных о продукции NO в норме и при патологическом процессе, связанном с перенесенной гипоксией. В связи с этим целью нашей работы явилось изучение влияния гипоксии на продукцию NO и состояние центральной гемодинамики у новорожденных и определение принципов адекватной терапии нарушений их постнатальной адаптации.

### **Материалы и методы исследования**

Обследовано 416 новорожденных различного гестационного возраста (33—39 недель), из которых 143 ребенка перенесли гипоксию. В зависимости от длительности и тяжести гипоксии и наличия сопутствующей патологии они были разделены на 2 группы.

1-ю группу составили 45 детей, перенесших острую гипоксию при рождении, 2-ю группу — 54 ребенка, перенесших внутриутробную хроническую гипоксию, при этом 21 из них родился в

асфиксии. В контрольную группу вошли 273 здоровых новорожденных.

Дети 1-й группы имели массу тела  $3500 \pm 70$  г, рост  $51,1 \pm 0,4$  см. У всех детей во время родов отмечались симптомы угрожающей асфиксии (урежение сердцебиения плода по типу Dip I или Dip II и/или окрашивание околоплодных вод меконием). 23 ребенка родились в легкой асфиксии (оценка по шкале Апгар 4—6 баллов), у остальных детей оценка по шкале Апгар была более 7 баллов.

Новорожденные 2-й группы имели массу тела  $3200 \pm 205$  г, рост  $50,1 \pm 1,8$  см. Все они перенесли внутриутробную гипоксию. У 18 из них оценка по шкале Апгар при рождении составила более 7 баллов, остальные родились в асфиксии (оценка по шкале Апгар 4—6 баллов).

Дети контрольной группы имели массу тела  $3420 \pm 112$  г, рост  $52 \pm 0,5$  см, оценка по шкале Апгар составила 8—9 баллов. Ранний неонатальный период протекал без особенностей.

Производство NO было изучено у всех детей основной группы (143) и у 96 здоровых новорожденных, а показатели центральной гемодинамики — у 22 детей, перенесших гипоксию, и у 206 здоровых новорожденных. Комплексные исследования, включающие изучение продукции NO и состояния центральной гемодинамики, проведены у 69 детей. Исследования начинали в первые сутки и проводили в динамике на 3—4-й и 7-й день жизни ребенка.

Продолжительность и тяжесть внутриутробного страдания ребенка оценивали на основании изучения особенностей течения беременности и родового акта у матерей, а также результатов гистологического исследования последнего. Обращали особое внимание на динамику показателей доплерометрии и кардиотокографии.

Клиническое состояние новорожденных оценивали в динамике в сопоставлении с результатами лабораторных исследований (клинический анализ крови, показатели кислотно-основного состояния, уровень сахара, электролитов, билирубина в крови и др.). Учитывали результаты НСГ, ЭКГ, эхокардиографических и рентгенографических исследований, а также микробиологических и вирусологических обследований.

О продукции NO в организме ребенка судили на основании определения суммарной экскреции с мочой нитратов и нитритов с помощью метода, описанного F. Madurno и M. G. Guengo с использованием реактива Грисса [15]. Сбор мочи у детей производили в 1-е и 4-е сутки жизни отдельно в дневное (9.00—21.00) и ночное (21.00—9.00) время суток.

Параметры гемодинамики регистрировали с помощью эхокардиографического исследования (эхокардиограф «Concept/S», Великобритания) в режиме M—V mode спектрального сканирования датчиком 7,5 МГц. Исследования проводили по общепринятой методике во время спокойного бодрствования ребенка на 1-й, 3-й, 4-й и 7-й дни жизни. Оценивали следующие показатели: конечный диастолический и систолический объемы (Vd, Vc) левого желудочка, ударный и минутный объемы крови (УО, МОК), сердечный индекс (СИ), фракцию изгнания (ФИ). Тип гемодинамики определяли с использованием сердечного индекса (СИ).

Результаты исследований обработаны с использованием методов анализа средних тенденций, качественных различий. Достоверность различий между средними величинами параметров определяли с помощью t-критерия Стьюдента, а для независимых выборок использовали непараметрический критерий U — Вилкоксона—Манна—Уитни. Качественные различия признаков оценивали по точному методу Фишера. Статистическую обработку материала проводили с применением пакета программ Statistica 5,0.

### Результаты и их обсуждение

Результаты исследований показали, что у здоровых доношенных и недоношенных детей имеется суточный ритм экскреции нитратов и нитритов (см. таблицу). Уровень экскреции в ночное время в 2—3 раза выше, чем в дневные часы не только в 1-е, но и на 4-е сутки жизни, что указывает на возрастание продукции NO.

Можно полагать, что повышение продукции NO в ночное время связано с активацией конститутивной формы NO-синтазы (эндотелиальной — eNOS и нейрональной — nNOS), о чем свидетельствуют данные экспериментальных исследований [14]. Учитывая роль NO в регуляции микроциркуляции, следует рассматривать высокую продукцию NO как необходимое условие для нормальной адаптации в период значительной перестройки

Таблица

Суммарный уровень экскреции нитратов и нитритов у новорожденных, перенесших хроническую и острую гипоксию

Группы детей	NO, нмоль/мл			
	1-е сутки		4-е сутки	
	день	ночь	день	ночь
Острая гипоксия (n=38)	$5,7 \pm 3,2^{1)2)}$	$35,8 \pm 3,6^{2)3)}$	$8,8 \pm 2,2^{1)2)}$	$19,2 \pm 4,5^{2)}$
Хроническая гипоксия (n=39)	$11,0 \pm 1,3^{1)2)}$	$24,5 \pm 2,8^{2)}$	$8,8 \pm 2,1^{1)2)}$	$19,8 \pm 2,4^{2)}$
Здоровые доношенные (n=96)	$3,2 \pm 0,4^{1)}$	$10,4 \pm 1,1$	$3,02 \pm 0,8^{1)}$	$10,5 \pm 2,5$
Здоровые недоношенные (n=26)	$4,5 \pm 1,5^{1)}$	$10,1 \pm 1,7$	$4,4 \pm 1,8^{1)}$	$10,7 \pm 2,7$

Достоверность различия: <sup>1)</sup> при сравнении показателей дневной и ночной экскреции, <sup>2)</sup> при сравнении показателей экскреции у здоровых детей, <sup>3)</sup> при сравнении показателей экскреции у детей с острой и хронической гипоксией.

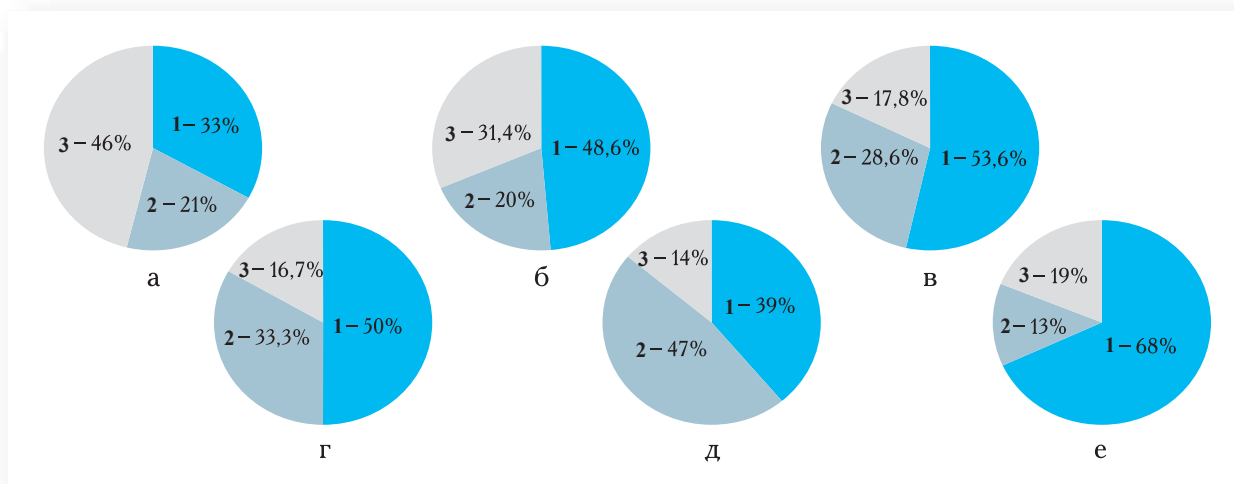


Рис. 1. Частота выявления различных типов гемодинамики у здоровых доношенных детей в первые 7 суток жизни.

а — 0–6 ч жизни, б — 6–12 ч жизни, в — 12–24 ч жизни, г — 3-и сутки, д — 4-е сутки, е — 7-е сутки; 1 — нормокинетический тип, 2 — гипокинетический тип, 3 — гиперкинетический тип.

гемодинамики и глубоких метаболических изменений на тканевом и органном уровнях.

Мы сопоставили показатели, характеризующие продукцию NO в организме новорожденных, с данными о состоянии центральной гемодинамики.

Установлено, что у здоровых доношенных новорожденных в состоянии спокойного бодрствования наблюдаются три типа гемодинамики — нормокинетический, гипокинетический и гиперкинетический. В первые 6 ч жизни у большинства из них представлен гиперкинетический, на 4-й день жизни — гипокинетический, а к концу раннего неонатального периода — нормокинетический тип гемодинамики (рис. 1).

Анализ показал, что при нормокинетическом типе гемодинамики имеются оптимальные соотношения между сократительной способностью миокарда, преднагрузкой (Vд) и постнагрузкой (УПС). При этом сила сокращения сердечной мышцы снижается при увеличении продукции NO ( $r_{\text{НО/ФИ}} = -0,5$ ;  $p < 0,04$ ), что, вероятно, имеет место в ночные часы.

Гипокинетический тип гемодинамики характеризуется низкой преднагрузкой, в результате чего снижается сила сокращения сердечной мышцы и уменьшается потребление энергии. Поддержание оптимального артериального давления осуществляется за счет увеличения периферического сосудистого тонуса, т.е. постнагрузки. Мы установили наличие при гипокинетическом типе гемодинамики корреляционной связи между состоянием периферического сосудистого тонуса и продукцией NO ( $r_{\text{НО/АДс}} = 0,8$ ;  $p < 0,05$ ), что свидетельствует об участии последней в регуляции гемодинамики на тканевом уровне.

Гиперкинетический тип существенно отличается от предыдущих состоянием высокой преднагрузки, силы сердечных сокращений и высоким

ударным объемом, т.е. осуществляется с большими затратами энергии. Корреляционные связи между параметрами гемодинамики и продукцией NO отсутствуют. Преобладание гиперкинетического типа гемодинамики в первые 6 ч после рождения, очевидно, определяется высоким уровнем глюкокортикоидных гормонов в крови ребенка и активацией центральных звеньев регуляции в условиях родового стресса. В условиях метаболической перестройки на 3–4-й день жизни доминирует гипокинетический тип гемодинамики как наименее энергоемкий. Изменение представленности различных типов гемодинамики в период постнатальной адаптации свидетельствует о хороших компенсаторно-приспособительных реакциях организма новорожденных.

Известно, что в условиях гипоксии у плодов и новорожденных происходит значительная гемодинамическая перестройка, степень изменений которой определяет характер и скорость постнатальной адаптации [1, 5].

Клиническое обследование детей, перенесших гипоксию, показало, что у всех имелись в той или иной степени выраженные нарушения функции ЦНС (нарушение сна, тремор конечностей, изменение мышечного тонуса и рефлексов, симптомы гипо- или гипервозбудимости).

Анализ условий внутриутробного развития и рождения детей показал, что кратковременная гипоксия у них была связана с осложнением родового акта, тогда как асфиксия при рождении у детей остальных групп была обусловлена в основном патологией внутриутробного развития. Об этом свидетельствует высокая частота заболеваний и осложнений беременности у их матерей.

Исследование экскреции нитратов и нитритов у детей, перенесших гипоксию, выявило значи-

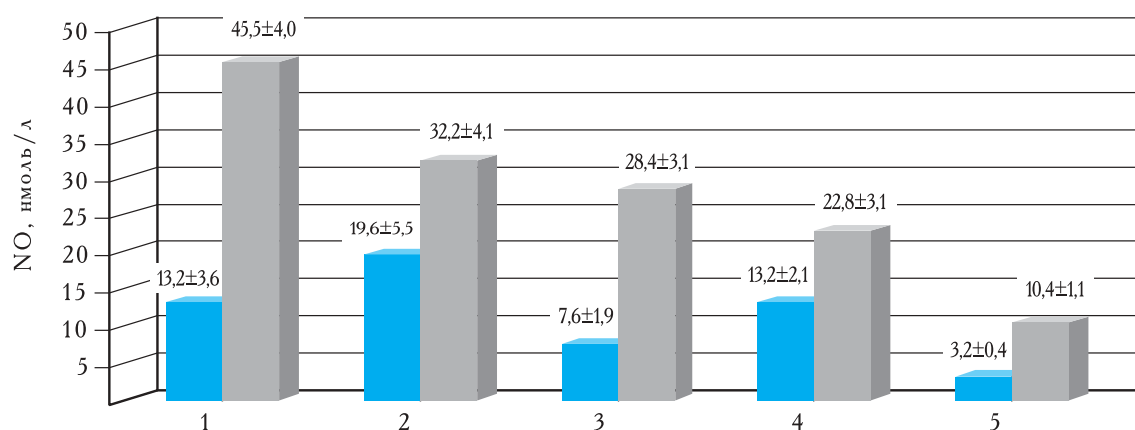


Рис. 2. Экскреция нитратов и нитритов у новорожденных в 1-е сутки жизни в зависимости от тяжести перенесенной гипоксии.

■ дневная экскреция, ■ ночная экскреция, 1 — угрожающая асфиксия в родах, 2 — асфиксия при рождении, 3 — внутриутробная хроническая гипоксия, 4 — внутриутробная хроническая гипоксия + асфиксия при рождении, 5 — контрольная группа.

тельное ее повышение по сравнению со здоровыми новорожденными (см. таблицу). Однако самый высокий ее уровень отмечался у детей, перенесших кратковременную острую гипоксию (рис. 2). Из рис. 2 видно, что чем более длительной была гипоксия, тем меньше была увеличена продукция NO в первые сутки у новорожденных.

Кроме того, для детей, перенесших острую гипоксию, было характерно быстрое снижение (в 2—3 раза) продукции NO к 4-му дню жизни, тогда как у детей, перенесших хроническую гипоксию, продукция NO сохранялась на прежнем уровне. Сопоставление полученных результатов с клиническим состоянием новорожденных показало, что в этих случаях до 7—10-го дня жизни сохранялись неврологическая симптоматика, снижение мышечного тонуса и рефлексов, отек мозговых структур в перивентрикулярных зонах по данным нейросонографии.

Из экспериментальных исследований известно, что в ответ на гипоксию наблюдается резкое возрастание продукции NO, что играет защитную роль, способствует поддержанию кальциевого гомеостаза клеток, защищая их от гибели [4, 5, 8]. Кроме того, повышенная продукция NO в условиях гипоксии приводит к снижению тонуса пиллярных артерий головного мозга и тем самым улучшению микроциркуляции и питания нервных клеток. Повышение NO способствует ингибированию избытка образующихся свободных радикалов [12]. Таким образом, повышение и последующее быстрое снижение продукции NO у детей, перенесших острую гипоксию, следует считать срочной компенсаторно-приспособительной реакцией.

Однако в случае длительного гипоксического состояния происходит истощение продукции NO

из предшественника L-аргинина, так как эта реакция может осуществляться в присутствии кислорода. Мы полагаем, что в условиях длительной гипоксии активируется более древний механизм продукции NO из нитратов и нитритов — нитрит-редуктазный путь, который на определенном этапе способствует нормализации состояния клеточных мембран [8]. Длительная гипоксия существенно меняет структуру гемосодержащих белков, что ведет к нарушению связывания с ними ионов  $\text{NO}_2^-$  с последующим образованием NO, нарушается функция ферментов, регулирующих электролитный обмен [17]. В этих условиях даже не столь значительное повышение продукции NO может оказывать отрицательное влияние вследствие цитотоксического действия. Токсический эффект NO обусловлен связыванием его с супероксидным анионом ( $\text{O}_2^-$ ) и образованием долгоживущего аниона пероксинитрита ( $\text{ONOO}^-$ ) — мощного инициатора процессов ПОЛ [3, 8]. В отличие от NO, пероксинитрит стимулирует захват  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями, разобщая тем самым процессы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, что в итоге обуславливает падение энергетического потенциала клеток, повреждение клеточного ДНК и гибель клеток [11]. Все это приводит к расстройствам регуляции жизненно важных функций, что и выражалось в тяжести неврологических нарушений и симптомов поражения сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

Сопоставление продукции NO с параметрами гемодинамики у детей, перенесших хроническую гипоксию, показало, что у них как в 1-й, так и на 4-й день жизни преобладает гипокинетический тип гемодинамики, что является компенсаторно-приспособительной реакцией, направленной на

поддержание артериального давления с наименьшими затратами энергии. Однако гипокинетический тип гемодинамики качественно отличается от такового у здоровых новорожденных. Наблюдается более низкая сила сердечных сокращений, чем в норме, а сосудистый тонус при этом, напротив, еще более высокий. Поддержание нормального АД осуществляется с большим напряжением, о чем свидетельствуют резкое возрастание числа корреляционных связей между параметрами гемодинамики. При этом не только параметры артериального давления коррелируют с продукцией NO ( $r_{\text{NO/АДс, АДл, АДср}} = 1,0$ ), но и сила сокращения сердечной мышцы ( $r_{\text{НО/ФИ}} = -1,0$ ), — она тем ниже, чем выше уровень NO.

Мы установили, что у детей, перенесших хроническую гипоксию, в отличие от новорожденных, перенесших острую гипоксию, наблюдаются более выраженные качественные изменения гемодинамики, что коррелирует с нарушениями микроциркуляции и функций сердечно-сосудистой системы, о чем свидетельствует наличие признаков перегрузки правых и левых отделов сердца и метаболические изменения в миокарде по данным ЭКГ.

#### Заключение

Таким образом, результаты наших исследований показали, что у новорожденных, перенесших гипоксию в период внутриутробного развития и/или рождения, повышена продукция NO, что на определенном этапе является компенсаторно-приспособительной реакцией. Однако в условиях длительной гипоксии она может играть существенную роль в генезе нарушений адаптации и развитии поражений ЦНС и сердечно-сосудистой системы. Учитывая значительные индивидуальные различия степени выраженности данной реакции в зависимости от длительности перенесенной гипоксии, следует осторожно относиться к использованию у рожениц и новорожденных препаратов, которые могут влиять на продукцию NO в организме.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гармашова Н. Л., Константинова Н. Н. Введение в перинатальную медицину. — М., 1978. — 296 с.
2. Евсюкова И. И. // Актуальные вопросы физиологии и патологии репродуктивной функции женщин. XXV научная сессия НИИ АГ им. Отта. / Под ред. Айламызян Э. К. — СПб., 1996—1997. — С. 60—63.
3. Манухина Е. Б., Лапшина А. В., Машина С. Ю. и др. // Бюлл. exper. биол. и мед. — 1995. — № 11. — С. 495—498.
4. Манухина Е. Б., Покидышев Д. А., Маленюк Е. Б. и др. // Изв. РАН. — Сер. биология. — 1997. — № 1. — С. 54—58.
5. Новикова Е. И., Поляковой Г. П. Клинические аспекты процессов адаптации у новорожденных. — М., 1974. — 235 с.
6. Пальчик А. Б., Шабалов Н. П. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. — СПб., 2000. — 224 с.
7. Реутов В. П. // Вестн. РАМН — 2000. — № 4. — С. 35—41.
8. Реутов В. П., Сорокина Е. Г., Охотин В. Е. и др. Циклические превращения окиси азота в организме млекопитающих. — М., 1997. — 155 с.
9. Шабалов Н. П. Современная терапия в неонатологии. — М., 2000. — 212 с.
10. Шабалов Н. П., Любименко В. А., Пальчик А. Б. и др. Асфиксия новорожденных. — М., 1999.
11. Berger R., Garnier Y. // Brain. Res. Brain. Res. Rev. — 1999. — Vol. 30, № 2. — P. 107—134.
12. Fleming I., Hecker M., Busse R. // Circ Res. — 1994. — Vol. 74. — P. 1220—1226.
13. Iribarra V, Germain A., Cuevas A. et al. // Rev. Med. Chil. — 2000. — Vol. 128, № 6. — P. 659—670.
14. Lizasoain I., Weiner C.P., Knowles R.G. et al. // Pediatr. Res. — 1996. — Vol. 39, № 5. — P. 779—783.
15. Madueno F., Guerra M. G. // Anal. Biochem. — 1991. — Vol. 198, № 1. — P. 200—202.
16. Norman J. E., Cameron I. T. // Rev. Reprod. — 1996. — Vol. 1, № 1. — P. 61—68.
17. Purcell T. L., Giver R., Chwalisz K. et al. // Mol. Hum. Reprod. — 1999. — Vol. 5, № 5. — P. 467—475.
18. Tworetzky W., Bristow J., Moore P., et al. // Lancet. — 2001. — Vol. 357, № 357. — P. 118—120.
19. Wheeler T., Evans P. W., Anthony F. W. et al. // Hum. Reprod. — 1999. — Vol. 14, № 6. — P. 1619—1623.