

Туркина Т.И.<sup>1</sup>, Щербо С.Н.<sup>1</sup>, Колодий Е.В.<sup>1</sup>, Дегтярева М.В.<sup>1</sup>, Киселева Е.В.<sup>2</sup>, Ваганов П.Д.<sup>1</sup>, Талицкий В.В.<sup>1</sup>

## ЗНАЧЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕНАСЫЩЕННОСТИ ЛИПИДОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С НИЗКОЙ И ЭКСТРЕМАЛЬНО НИЗКОЙ МАССОЙ ТЕЛА ПРИ РОЖДЕНИИ

<sup>1</sup>Кафедра клинической лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования, кафедра неонатологии факультета усовершенствования врачей, кафедра педиатрии лечебного факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва; <sup>2</sup>ФГБУН «Институт химической физики им. Н.Н. Семенова» РАН, Москва, Россия

Для корреспонденции: Туркина Татьяна Ивановна, доктор биол. наук, профессор. E-mail: kldkaf@yandex.ru

♦ Впервые изучена диагностическая значимость суммарной ненасыщенности липидов плазмы крови (двойные связи — ДС) у 25 новорожденных детей, в том числе у глубоко недоношенных новорожденных с экстремально низкой массой тела при рождении. Определение ненасыщенности липидов крови проводили экспресс-методом озонирования на анализаторе АДС-5М. В качестве группы сравнения обследованы 7 здоровых доношенных новорожденных. На основании анализа уровня ДС у здоровых доношенных новорожденных был впервые определен нормальный уровень ДС для новорожденных. Обследовано 18 случайно отобранных детей, в период новорожденности получавших лечение в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных (ОРИТН). При сопоставлении уровня ДС больных новорожденных установлено, что по степени ненасыщенности липидов выделенные группы больных новорожденных с течением врожденной инфекции различной степени тяжести (вплоть до сепсиса) достоверно различаются, что можно объяснить изменением структуры жирных кислот как в свободном состоянии, так и в составе липидных комплексов. Такие изменения следует учитывать при лечении, так как ненасыщенность фракций липидов имеет отношение к стабилизации мембран, а содержание эссенциальных жирных кислот в нейтральных липидах связано с механизмом свертывания крови. Представленные материалы показывают перспективность дальнейшего использования показателя ДС в качестве дополнительного критерия в лабораторной диагностике и мониторинга для адекватной тактики лечения новорожденных детей, находящихся в ОРИТН (антиоксидантные, гиполлипидемические и мембраностабилизирующие препараты), а также с целью прогнозирования осложнений.

**Ключевые слова:** недоношенные новорожденные; ненасыщенность липидов (двойные связи).

*Для цитирования:* Российский медицинский журнал. 2015; 21 (6): 15—17.

*Turkina T.I.<sup>1</sup>, Scherbo S.N.<sup>1</sup>, Kolodiy E.V.<sup>1</sup>, Degtyareva M.V.<sup>1</sup>, Kiseleva E.V.<sup>2</sup>, Vaganov P.D.<sup>1</sup>, Talitskiy V.V.<sup>1</sup>*

### THE IMPORTANCE OF ANALYSIS OF NONSATURATION OF LIPIDS OF BLOOD PLASMA IN NEWBORNS WITH LOW AND EXTREMELY LOW BODY MASS AT BIRTH

<sup>1</sup>The N.I. Pirogov Russian national research medical university Minzdrav of Russia, 117997 Moscow, Russia;

<sup>2</sup>The N.N. Semenov institute of chemical physics of the Russian academy of sciences, Moscow, Russia

♦ For the first time the diagnostic significance of total nonsaturation of lipids of blood plasma (double bonds) was analyzed in 25 newborns, including small premature infants with extremely low body mass at birth. The detection of nonsaturation of lipids of blood plasma was implemented using quick-test of ozonization at the analyzer "ADS-5M". The comparison group included 7 examined healthy full-term newborns. The normal level double bonds for newborns was established for the first time on the basis of analysis of level of double bonds in healthy full-term newborns. The random sampled 18 children treated in the department of reanimation and intensive therapy of newborns were examined. The comparison of level of double bonds in ill newborns established that singled out groups of ill newborns with course of congenital infection of different degree of severity (down to sepsis) are differentiated reliably on degree of nonsaturation of lipids. This occurrence can be explained by alteration of structure of fatty acids both in free condition and composition of lipid complexes. The alterations should be considered in treatment because nonsaturation of fractions of lipids relate to stabilization of membranes and content of essential fatty acids in neutral lipids is related to mechanism of blood clotting. The presented materials demonstrate availability of further application of indicator of double bonds as an additional criterion in laboratory diagnostic and monitoring for adequate tactic of treatment of newborns being in the department of reanimation and intensive therapy of newborns (antioxidant, hypoglycemic and membrane-stabilized pharmaceuticals) and also with purpose of prognosis of complications.

**Keywords:** premature infant; nonsaturation of lipids (double bonds).

*Citation:* Rossiiskii meditsinskii zhurnal. 2015; 21 (6): 15—17. (In Russ.)

*For correspondence:* Tat'yana Turkina, MD, PhD, DSc. E-mail: kldkaf@yandex.ru

Received 24.12.14

Для периода адаптации недоношенных новорожденных характерно высокое напряжение метаболических процессов. В течение периода новорожденности у них достаточно интенсивно происходит структурное и функциональное созревание органов и систем, для чего требуется высокое энергетическое обеспечение [1,2]. Кроме того, недоношенные дети, в особенности с низкой и экстремально низкой массой тела при рождении, находятся в группе риска по реализации врожденной инфекции и развитию раннего или позднего неонатального сепсиса. К факторам риска развития сепсиса прежде всего относится недоношенность, потому что у

недоношенных детей слабые противомикробные барьеры на пути инфекционного агента и они иммунологически не защищены от инфекции в силу особенностей их организма [3]. Чем больше степень недоношенности, тем с большими проблемами в лечении и выхаживании приходится сталкиваться. Компенсаторные возможности детского организма велики, но и они испытывают огромную нагрузку в период неонатальной адаптации. Наряду со многими метаболическими нарушениями, характерными для периода новорожденности, в последние годы существенное внимание уделяется липидным нарушениям, в частности показателям обмена холесте-

на, триглицеридов, фосфолипидов, неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК).

Работами последних лет показана важная роль ненасыщенных жирных кислот (ННЖК) в образовании в организме высокоактивных веществ, среди которых особого внимания заслуживают арахидоновая (предшественник простагландинов), а также линолевая и линоленовая кислоты. Эти кислоты обладают очень высокой способностью участвовать в реакциях присоединения или разделения по месту двойных связей (ДС) [4]. У новорожденных с течением внутриутробной инфекции, в том числе TORCH-комплекса, органами-мишенями являются не только клетки эпителия слизистых и кожи, иммунной системы, а и эндотелий сосудов, нейроны и нейроглия, содержащая запасы стволовых клеток. Недостаточная активность макрофагов-моноцитов ухудшает барьерную функцию органов с дополнительным поражением нейронов, миокардиоцитов, гепатоцитов и других клеток персистирующими инфекциями и развитием системной воспалительной реакции мезенхимальных тканей [5]. При остром течении воспалительного процесса в первую очередь мобилизуются ННЖК, углеродная цепь которых содержит ДС, что приводит к значительным морфологическим и функциональным изменениям клеточных мембран: увеличению жесткости, нарушению трансмембранного транспорта, процессов диффузии, изменению активности ряда мембраносвязанных ферментов, нарушению баланса в системе оксиданты—антиоксиданты [6—8]. Известно также, что при активно текущем воспалительном процессе изменяется жирно-кислотный спектр и концентрация ННЖК в крови, и эти изменения касаются как НЭЖК, так и кислот липидного комплекса. Выявлена корреляция тяжести состояния больного с характером и степенью сдвигов концентрации НЭЖК. Высокая метаболическая активность жирных кислот (ЖК), особенно ненасыщенных, участие их в процессах перекисного окисления липидов, синтеза простагландинов вызывают необходимость более углубленного изучения этого класса липидов. Однако определение спектра ЖК газохроматографическим методом малопригодно для мониторинга недоношенных новорожденных из-за большой продолжительности исследования и его сложности. Новым и перспективным методом оценки нарушений липидного обмена является определение общей ненасыщенности липидов сыворотки крови, которая зависит от суммарного количества ДС в ННЖК.

### Материал и методы

Теоретический интерес и практическая значимость исследований побудили нас определить ненасыщенность липидов сыворотки крови (это сделано впервые) у доношенных новорожденных, недоношенных новорожденных с низкой и экстремально низкой массой тела, получавших лечение в условиях ОРИТН. Под наблюдением находились 25 детей, 7 из которых — здоровые доношенные новорожденные, вошедшие в группу сравнения. В основную группу вошли дети, гестационный возраст которых составил 28—40 нед, постнатальный возраст — от 1 сут жизни до 1 мес, масса тела при рождении была 750—4020 г, которые находились в условиях ОРИТН. У всех детей основной группы при рождении выявлены признаки реализации врожденной инфекции, прежде всего пневмонии, потребовавшей проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ), интенсивной терапии в условиях

ОРИТН, а также лабораторные признаки активного течения системной воспалительной реакции (СВР).

В 1-й группе были недоношенные новорожденные с экстремально низкой массой тела (менее 1000 г) при рождении (12%), во 2-й — недоношенные новорожденные с очень низкой массой тела (1001—1500 г) при рождении (8%), в 3-й — недоношенные новорожденные с низкой массой тела (1501—2000 г) при рождении (28%), в 4-й — дети, у которых масса тела при рождении составила 2001—2500 г (12%), в 5-й — доношенные дети (16%), находившиеся с рождения в условиях ОРИТН. Ненасыщенность липидов плазмы крови определяли при рождении (пуповинная кровь), на 3-и, 14-е сутки жизни и в 1-й месяц постнатального возраста.

Определение ненасыщенности липидов плазмы крови (ДС) проводили методом озонирования с помощью отечественного прибора АДС-5М, разработанного в Институте химической физики им. Н.Н. Семенова РАН [9]. Метод озонирования основан на взаимодействии озона со связью С=С ННЖК в эквимольном соотношении. Расход озона на химическую реакцию регистрировался спектрофотометрически. Метод характеризуется высокой чувствительностью, точностью ( $\pm 1\%$ ), селективностью и экспрессностью (1—3 мин на одно определение).

Полученные данные обработаны методом вариационной статистики с использованием пакета статистических программ Stat Soft 6.0.

### Результаты и обсуждение

В таблице представлены результаты исследования ненасыщенности липидов плазмы крови — ДС.

Нами определены нормативные значения ненасыщенности липидов плазмы крови (в ммоль/л) у 7 здоровых доношенных новорожденных (группа сравнения) в 1-е сутки жизни (при рождении): ДС=15,4 $\pm$ 2,0 ммоль/л.

Сравнительный анализ уровня ДС в этих группах в зависимости от компенсации метаболических нарушений показал, что его динамика напрямую зависела от степени проявления признаков врожденной инфекции и от гестационного возраста. Оказалось, что при нарастающей активности инфекционного процесса (лейкоцитоз/лейкопения, тромбоцитопения, высокий уровень С-РБ, ПКТ) уровень ДС достоверно снижался. У 20% детей с признаками течения врожденной инфекции, подтвержденной клинико-лабораторными данными, с первых суток жизни уровень ДС был ниже — 10 (8,24 $\pm$ 2,0) ммоль/л. Сравнительный анализ показал, что у новорожденных 1-й и 2-й групп уровень ДС был значительно ниже по сравнению с таковым в группе сравнения. Наиболее низкий уровень ДС был у детей 1-й группы на 1-е

*Ненасыщенность липидов плазмы крови при рождении и в разные сроки постнатального развития (ДС, ммоль/л; M  $\pm$  m)*

Группа детей	Срок исследования			
	1-е сутки	3-и сутки	14-е сутки	1 мес
1-я (n = 3)	10,80 $\pm$ 0,50*	7,5 $\pm$ 1,20**	15,5 $\pm$ 2,23***	21,7 $\pm$ 3,10***
2-я (n = 2)	11,00 $\pm$ 0,31*	16,5 $\pm$ 2,05**	15,6 $\pm$ 1,85	20,3 $\pm$ 1,88***
3-я (n = 7)	12,9 $\pm$ 1,41	13,0 $\pm$ 2,13	14,1 $\pm$ 2,48	12,5 $\pm$ 1,46
4-я (n = 3)	10,67 $\pm$ 1,39*	8,9 $\pm$ 1,91*	11,0 $\pm$ 1,52	—
5-я (n = 4)	13,9 $\pm$ 2,45	15,4 $\pm$ 2,12	12,3 $\pm$ 1,50	—
Группа сравнения (n = 7)	15,4 $\pm$ 2,00	15,4 $\pm$ 2,10	—	—

Примечание. \* —  $p \leq 0,05$  — достоверность различий показателей у детей 1-х суток жизни с показателями в группе сравнения; \*\* —  $p \leq 0,05$  — с показателями у детей 3-х суток жизни; \*\*\* —  $p \leq 0,05$  — с показателями у детей 14-х суток жизни.

и 3-и сутки жизни ( $p < 0,05$  и  $p \leq 0,01$  соответственно). Дети 1-й группы, перенесшие фетоплацентарную недостаточность во время внутриутробного развития, гипоксию при рождении, а также находящиеся на полном парентеральном питании в связи с развитием энтероколита, безусловно, испытывают глубокий дефицит ННЖК. К двум неделям жизни отмечалась нормализация уровня ДС ( $15,5 \pm 2,23$  ммоль/л), что обусловлено стабилизацией общего состояния ребенка и эффективностью проводимой терапии. Именно у детей 1-й группы, которые длительно находились на полном парентеральном питании и испытывали дефицит основных нутриентов, выявлялось самое низкое значение ДС. Кроме того, нами отмечено, что длительное сохранение показателя ДС на низких цифрах ( $7,5 \pm 1,2$  ммоль/л) является прогностически крайне неблагоприятным признаком, свидетельствующим о слабой эффективности проводимой терапии либо об отсутствии ответа на нее организма больного, вплоть до летального исхода при тяжелом течении врожденной инфекции, и является основанием для принятия кардинальных мер по изменению тактики лечения, прежде всего по усилению антиоксидантной, мембраностабилизирующей, антипротезитической терапии.

В работе была выявлена закономерность изменения уровня насыщенности — ДС (достоверное снижение) в зависимости от тяжести системной воспалительной реакции во 2 — 5-й группах, но в 1-й группе — у детей с экстремально низкой массой тела при рождении — эти изменения более выраженные, более глубокие, что обусловлено их физиологическими особенностями (глубокой незрелостью). У новорожденных 2 — 5-й групп при стабилизации клинического состояния и нормализации показателей СВР к 3-м, 4-м суткам и 1 мес жизни уровень ДС постепенно нормализовался.

Организм здорового человека имеет ограниченные возможности синтезировать необходимое количество ННЖК, больные люди и недоношенные новорожденные практически не могут самостоятельно синтезировать их [5]. Течение инфекционного процесса, электролитные нарушения, дефицитные состояния приводят к избыточному накоплению перекисей липидов, являющихся, как известно, ингибиторами тканевого дыхания, что в свою очередь усугубляет метаболические нарушения [10]. Число ДС в составе ЖК является тестом, который позволяет оценить насыщенность их пула в составе липидов плазмы крови. Определение уровня ДС является дополнительным методом динамического наблюдения за состоянием новорожденного в период адаптации, особенно в условиях проводимой интенсивной терапии в ОРИТН. Кроме того, изменения уровня ДС могут служить прогностически значимым критерием оценки тяжести состояния новорожденного в критическом состоянии.

Наиболее выраженные нарушения уровня ненасыщенности липидов — ДС отмечались у новорожденных с низкой и экстремально низкой массой тела при рождении. Наиболее длительно низкий уровень показателя ДС сохранялся у новорожденных с подтвержденным клинико-лабораторными данными течением инфекционного процесса (сепсиса), независимо от гестационного возраста. Наблюдение за динамикой ненасыщенности липидов сыворотки крови у новорожденных свидетельствует о том, что показатель ДС можно использовать в качестве дополнительного критерия в лабораторной диагностике и для мониторинга, а также для объективизации

формирования адекватной тактики лечения (введения антиоксидантной терапии, иммунокорректирующей терапии, мембраностабилизирующих препаратов), прогнозирования осложнений. Эти предварительные данные диктуют необходимость более детального изучения взаимосвязи содержания ДС в липидных компонентах крови у новорожденных в период адаптации.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 4 см. References)

1. Володин Н.Н. *Неонатология. Национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007.
2. Яцык Г.В., Боровик Т.Э., Ладодо К.С., Скворцова В.А., Беляева И.А., Лукьянова О.Л. и др. *Рациональное вскармливание недоношенных детей. Методические рекомендации*. М.: МЗ РФ; 2004.
3. Самсыгина Г.А. Сепсис и септический шок у новорожденных детей. *Педиатрия*. 2009; 87(1): 120—7.
5. Баранов А.А., ред. *Руководство по педиатрии*. Том Неонатология. М.; 2007.
6. Шилина Н.М., Медведев Ф.А., Нетребенко О.К., Рогаткин С.О., Таран Н.Н., Дегтярев Д.Н. и др. Изучение системы перекисного окисления липидов/антиоксидантная активность и спектра жирных кислот в крови у недоношенных детей. *Вопросы детской диетологии*. 2012; 10(6): 17—22.
7. Туркина Т.И., Семькин С.Ю., Капустина Т.Ю., Мартыновский Д.В., Мутовин Г.Р. Метаболические аспекты патологии эритроцитарных мембран у детей, больных муковисцидозом. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2010; 89 (4): 36—9.
8. Олендарь Н.В., Дашичев В.В., Андреев А.А., Кулибина О.В., Синкина И.А. Особенности липидного обмена у недоношенных новорожденных детей. *Вопросы детской диетологии*. 2009; 7(5): 15—8.
9. Лисицин Д.М., Позняк Т.И., Разумовский С.Д. Метаболическое исследование процессов взаимодействия озона с некоторыми физическими соединениями. *Кинетика и катализ*. 1976; 17(4): 1049—55.
10. Боброва Н.И. *Генетический анализ показателей перекисного окисления липидов мембран эритроцитов при муковисцидозе*: Автореф. дис. ... канд.мед.наук. Киев; 1991.

#### REFERENCES

1. Volodin N.N. *Neonatology. National Leadership [Neonatologiya. Natsional'noe rukovodstvo]*. Moscow: GEOTAR MED; 2007. (in Russian)
2. Yatsyk G.V., Borovik T.E., Ladodo K.S., Skvortsova V.A., Belyaeva I.A., Lukoyanova O.L. et al. *Rational Feeding Premature Babies. Guidelines [Ratsional'noe vskarmlyvanie nedonoshennykh detey. Metodicheskie rekomendatsii]*. Moscow: MZ RF; 2004. (in Russian)
3. Samsygina G.A. Sepsis and sepsis shok in the neonate born children. *Pediatrics*. 2009; 87(1): 120—7. (in Russian)
4. Harris W.S. Fish oil and lipoprotein metabolism in human: a critical review. *J. Lipid Res*. 1989; 30: 785—807.
5. Baranov A.A., ed. *Direction of Pediatrics [Rukovodstvo po pediatrii]*. Vol. Neonatology. Moscow: 2007. (in Russian)
6. Shilina N.M., Medvedev F.A., Netrebenco O.K., Rogatkin S.O., Taran N.N., Degtyarev D.N. et al. Study of the system of lipid peroxidation/antioxidant activity and the spectrum of fatty acids in blood of premature children. *Voprosy detskoy dietologii*. 2012; 10(6): 17—22. (in Russian)
7. Turkina T.I., Semykin S.Yu., Kapustina T.Yu., Martynovskiy D.V., Mutovin G.R. Metabolism aspect pathology in erythrocytic membranes in children with cystic fibrosis. *Pediatrics. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2010; 89 (4): 36—9. (in Russian)
8. Olenar' N.V., Dashichev V.V., Andreev A.A., Kulibina O.V., Sinkina I.A. Lipid metabolic pathways of premature children. *Voprosy detskoy dietologii*. 2009; 7(5): 15—8. (in Russian)
9. Lisitsin D.M., Poznyak T.I., Razumovskiy S.D. Metabolic study of the interaction of ozone with some physical connections. *Kinetika i kataliz*. 1976; 17(4): 1049—55. (in Russian)
10. Bobrova N.I. *Genetic Analysis of the Value System of Lipid Peroxidation Erythrocytic Membranes with Cystic Fibrosis*: Dis. Kiev; 1991. (in Russian)

Поступила 24.12.14