

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Уральский научно-исследовательский институт
охраны материнства и младенчества»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

**ШАКИРОВА
КСЕНИЯ ПАВЛОВНА**

**ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА И
РЕАКЦИИ ИММУНИТЕТА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ ПРИ
ОРОФАРИНГЕАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ МОЛОЗИВА**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

14.01.08 – педиатрия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:

Черешнев Валерий Александрович, академик
РАН, доктор медицинских наук, профессор

Чистякова Гузель Нуховна, доктор
медицинских наук, профессор

Екатеринбург – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

	С.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПАТОЛОГИИ, ИММУНИТЕТА, МИКРОБНОЙ КОЛОНИЗАЦИИ И АКТУАЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ВЫХАЖИВАНИЯ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	12
1.1 Медицинские и социально-экономические проблемы рождения недоношенных детей	12
1.2 Заболеваемость недоношенных детей	13
1.3 Формирование иммунных реакций и микробиомы кишечника недоношенных детей	18
1.3.1 Влияние орофарингеального введения молозива на реализацию иммунных реакций	21
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	25
2.1 Материалы работы и структура исследования	25
2.2 Характеристика лечебных мероприятий, проводимых недоношенным детям	27
2.3 Комплекс стандартного обследования и методы исследования	29
2.3.1 Стандартные лабораторные и инструментальные исследования	30
2.3.2 Обоснование проведения и методы оригинальных исследований	32
2.4 Сроки проведения исследований	37
2.5 Статистические методы исследования	38
ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРЕЙ И НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ	40
3.1 Клинико-anamнестические особенности матерей	40
3.2 Клиническая характеристика недоношенных детей	41

ГЛАВА 4.	ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОБНОЙ КОЛОНИЗАЦИИ И ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ	62
4.1	Микробная колонизация и особенности гуморального иммунного ответа недоношенных детей по достижению постконцептуального возраста 37-40 недель	62
4.2	Состояние врожденного иммунитета недоношенных детей	66
4.3	Микробная колонизация кожи, носовой полости, ротоглотки и нижних дыхательных путей	69
4.4	Микрофлора молозива и грудного молока	70
ГЛАВА 5.	ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ОРОФАРИНГЕАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ МОЛОЗИВА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ, РОДИВШИХСЯ В СРОКЕ ГЕСТАЦИИ 24-27 НЕДЕЛЬ 6 ДНЕЙ ВКЛЮЧИТЕЛЬНО	75
5.1	Характеристика клинического состояния недоношенных детей при применении метода орофарингеального введения молозива	75
5.2	Микробная колонизация кишечника недоношенных детей, получавших молозиво орофарингеально	81
5.3	Содержание секреторного иммуноглобулина А в копрофильтратах детей, получавших и не получавших орофарингеальное введение молозива	83
5.4	Особенности врожденного иммунитета недоношенных детей при орофарингеальном введении молозива	86
5.5	Прогнозирование риска развития инфекционной патологии у недоношенных детей от сверхранних и ранних преждевременных родов	90
5.5.1	Алгоритм дополнительного обследования детей, родившихся в сроке сверхранних и ранних преждевременных родов	96
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	99
	ВЫВОДЫ	111
	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	112
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	114

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД	Артериальное давление
АЛТ	Аланинаминотрансфераза
АСТ	Аспартатаминотрансфераза
БЛД	Бронхолегочная дисплазия
ВЖК	Внутрижелудочковые кровоизлияния
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ВПК	Высокопоточные назальные канюли
ГВ	Гестационный возраст
ГЗФАП	Гемодинамически значимый функционирующий артериальный проток
ИВЛ	Искусственная вентиляция легких
ИФА	Иммуноферментный анализ
КОЕ	Колониеобразующая единица
КОС	Кислотно-основное состояние крови
НГОБ	Неферментирующие грамотрицательные бактерии
НМПК	Нарушение маточно-плацентарного кровотока
НСГ	Нейросонография
НЭК	Некротизирующий энтероколит
ОАП	Открытый аортальный проток
ОНМТ	Очень низкая масса тела
ОПННД	Отделение патологии новорожденных и недоношенных детей
ОРИТН	Отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных
ПВЛ	Перивентрикулярная лейкомаляция
ПКВ	Постконцептуальный возраст
ПР	Преждевременные роды
РДС	Респираторный дистресс-синдром
РН	Ретинопатия недоношенных
СРБ	С-реактивный протеин (C-reactive protein)
ТБД	Трахеобронхиальное дерево
УЗИ	Ультразвуковое исследование
УПМ	Условно-патогенная микрофлора

ЦНС	Центральная нервная система
ЭНМТ	Экстремально низкая масса тела
ЭхоКГ	Эхокардиография
BE	Буферные основания во внеклеточной жидкости
CD	Cluster of differentiation (кластер дифференцировки)
CPAP	Constant positive airway pressure (постоянное положительное давление в дыхательных путях)
CR	Complement receptor (рецептор комплемента)
Hb	Гемоглобин
HCO ₃ ⁻	Стандартный бикарбонат
Ht	Гематокрит
IFN- γ	Interferon gamma (интерферон-гамма)
IL	Interleukin (Интерлейкин)
LISA	Lissin invasive surfactant administration
MCH	Среднее содержание гемоглобина в эритроците
MCV	Средний объем эритроцита
MCHC	Средняя концентрация гемоглобина в эритроците
NF- κ B	Nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells (ядерный фактор «каппа-би»)
PAMP	Pathogen-associated molecular pattern (паттерн распознающие рецепторы)
pH	Кислотность крови
pO ₂	Парциальное напряжение кислорода в крови
pCO ₂	Парциальное напряжение углекислого газа в крови
TNF	Tumor necrosis factor (фактор некроза опухоли)
TLR	Toll-like receptor (толл-подобные рецептор)
UNICEF	United Nations Children's Fund
sIgA	Secretory Immunoglobulin A (секреторный иммуноглобулин А)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработки. Высокий уровень преждевременных родов способствовал совершенствованию медицинских технологий выхаживания недоношенных детей, благодаря чему удалось сократить долю неонатальной смертности с 1990 г. по 2018 г. с 5 до 2,5 миллионов [26, 131]. Общемировой анализ смертности детей в возрасте до 5 лет, проведенный Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в 2018 г, показал, что 47% летальных случаев происходит в первый месяц жизни, треть из них в категории недоношенных новорожденных. Показатели хронической патологии детей от преждевременных родов, формирующейся после рождения к постконцептуальному возрасту 37-40 недель остаются на достаточно высоком уровне даже в развитых странах [31, 132, 148].

Одной из актуальных проблем современной неонатологии является изучение иммунного ответа у недоношенных новорожденных, который является первым рубежом защиты от чужеродных патогенов и запускается под влиянием микробной колонизации кишечника [12, 20, 37, 117].

Получение грудного молока матери в первый час жизни после рождения оказывает положительное влияние на всю дальнейшую жизнь ребёнка. По данным доклада ВОЗ и United Nations Children's Fund (UNICEF), опубликованном в 2018 году, позднее начало грудного вскармливания (через 2-23 часа после рождения) увеличивает риск смерти жизни ребёнка в 1,3 раза в первые 28 дней жизни [159]. Кроме того, молозиво оказывает существенное влияние на иммунные реакции.

Тяжелое состояние недоношенных детей при рождении требует проведения комплекса первичной реанимационной помощи в условиях операционно-родового блока, что обуславливает трудности раннего начала грудного вскармливания и осуществления контакта «кожа к коже», в связи с чем необходим поиск и изучение методов, которые могли бы заменить естественное прикладывание к груди матери преждевременно родившихся детей при рождении [26, 83, 121, 138]. Что и явилось целью нашего исследования.

Цель исследования. Оценить особенности течения раннего постнатального периода и изменения иммунологических параметров у недоношенных детей при орофарингеальном введении молозива.

Задачи исследования:

1. Изучить клиническое состояние и структуру микробной колонизации недоношенных детей различного гестационного возраста, в динамике периода наблюдения (от рождения до постконцептуального возраста 37-40 недель).

2. Определить иммунологические критерии риска реализации инфекционно-воспалительных заболеваний у недоношенных детей и разработать алгоритм обследования данной категории новорожденных.

3. Оценить функциональную активность моноцитов крови и уровень секреторного иммуноглобулина А в копрофильтратах у недоношенных детей при орофарингеальном введении молозива.

4. Выявить особенности течения раннего постнатального периода у недоношенных детей, получавших орофарингеальное введение молозива.

Научная новизна исследования.

Подтверждено снижение фагоцитарной способности нейтрофильных гранулоцитов и продукции секреторного иммуноглобулина А в копрофильтратах у недоношенных детей 24-27 недель при рождении и в постконцептуальном возрасте 37-40 недель, что отражает повышенную частоту инфекционных заболеваний. В динамике периода адаптации наблюдается повышение функциональной активности моноцитов у всех детей вне зависимости от гестационного возраста.

Впервые разработаны: «Способ ротоглоточного (орофарингеального) двукратного введения молозива недоношенным детям с экстремально низкой массой тела» (патент РФ на изобретение № 2709258 от 17.12.2019); «Способ раннего прогнозирования инфекций специфичных для перинатального периода у недоношенных детей с экстремально низкой и очень низкой массой тела» (приоритетная справка № 2020115642 от 12.05.2020); «Способ раннего прогнозирования развития неонатальной пневмонии у недоношенных детей с

экстремально низкой и очень низкой массой тела» (приоритетная справка № 2020115632 от 12.05.2020).

Теоретическая и практическая значимость работы.

Расширены представления об особенностях врожденного иммунитета и микробной колонизации недоношенных детей с момента рождения и до постконцептуального возраста 37-40 недель. Результаты, полученные при апробации метода орофарингеального введения молозива, показали, что данная технология является безопасной и оказывает положительное влияние на клиническое состояние недоношенных детей. На основании разработанных способов прогнозирования инфекций перинатального периода (по международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ 10) код P39.9) и неонатальной пневмонии предложен алгоритм обследования недоношенных новорожденных от сверхранних и ранних преждевременных родов.

Методология и методы исследования. Для достижения поставленной цели проведена двухэтапная система исследования с участием 129 недоношенных детей. На первом этапе было выполнено проспективное сравнительное когортное исследование, на втором – сравнительное рандомизированное исследование. Методология исследования базировалась на основах доказательной медицины, системном и комплексном подходе с применением общенаучных и специфических методов, включающих клинико-anamнестические, лабораторные, инструментальные, микробиологические, статистические методы. Все исследования выполнены в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных и медицинских исследований с участием человека» с поправками 2008 г. и нормативных документов «Правила клинической практики в Российской Федерации, утверждённых Приказом № 226 от 19.06.2003 г. Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. Протокол исследования одобрен этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства

здравоохранения Российской Федерации (далее ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ). От всех матерей получено информированное согласие на использование биологического материала в научных целях.

Положения, выносимые на защиту.

1. Реализация патологических состояний у недоношенных детей обусловлена не только гестационным возрастом, но и сниженной фагоцитарной активностью нейтрофильных гранулоцитов (на системном уровне), увеличением степени колонизации условно-патогенными микроорганизмами на фоне низкого содержания секреторного IgA (в толстом кишечнике).

2. Определение показателей С-реактивного белка, CD14+CD282+, фагоцитарной активности нейтрофилов у недоношенных детей обладает высокой прогностической значимостью в оценке риска реализации инфекционных заболеваний в неонатальном периоде.

3. Внедрение технологии орофарингеального введения молозива позволяет скоррегировать транзиторную гипогликемию, сократить длительность парентерального питания, достигнуть более высоких весовых показателей, снизить риск инфекционно-воспалительных заболеваний за счет повышения продукции секреторного иммуноглобулина А на локальном уровне, у недоношенных детей.

Степень достоверности, апробация результатов и личное участие автора. Исследование проводили в соответствии с принципами доказательной медицины. Достоверность результатов работы, обоснованность выводов и практических рекомендаций базируется на достаточном количестве наблюдений, применении современной аппаратуры и методов статистической обработки материала с использованием актуального программного обеспечения.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на заседаниях проблемной комиссии и Ученого Совета ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ, VIII конференции с международным участием «Перинатальная медицина: новые технологии и междисциплинарные подходы» (Екатеринбург, 2016), V конгрессе акушеров-гинекологов Уральского федерального округа «Перинатальная

медицина – от истоков к современности» (Екатеринбург, 2017), научно-практической конференции «Современные тренды развития репродуктивной медицины» Конкурс молодых ученых (Екатеринбург, 2018), Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (Иваново, 2018), Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием (Иваново, 2019), Евро-Азиатском неонатальном форуме (Екатеринбург, 2019), VI конгрессе акушеров-гинекологов Уральского федерального округа с международным участием «Инновации в перинатальной и репродуктивной медицине» (Екатеринбург, 2019), XII конгрессе «Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии» Конкурс молодых ученых (Москва, 2019), VI научно-практической конференции акушеров-гинекологов Уральского федерального округа в дистанционном режиме «Малышевские чтения»: демографические вызовы современности в условиях пандемии COVID19» (Екатеринбург, 2020), VII конгрессе акушеров-гинекологов Уральского федерального округа в дистанционном режиме «Женское здоровье: от рождения до менопаузы» (Екатеринбург, 2020).

Личный вклад соискателя осуществлялся на всех этапах диссертационного исследования. Основная идея, планирование научной работы, цели и задачи, определение методологии и общей концепции диссертации выработывались совместно с научными руководителями академиком РАН, д.м.н., проф. Черешневым В.А. и д.м.н., проф. Чистяковой Г.Н.

Автор осуществлял сбор анамнеза, забор биологического материала для исследования, разрабатывал статистические карты, обрабатывал медицинскую информацию, выполнял статистическую обработку, проводил анализ отечественной и зарубежной литературы, интерпретировал полученные результаты, занимался написанием и оформлением рукописи диссертации, представлял результаты работы в публикациях и в виде докладов на конгрессах и конференциях.

Внедрение результатов исследования в практику. Разработанный способ ротоглоточного (орофарингеального) двукратного введения молозива недоношенным детям с экстремально низкой массой тела внедрен в практическую работу родового отделения и отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ (Екатеринбург). Материалы диссертационного исследования используются в педагогическом процессе для обучения ординаторов и слушателей циклов повышения квалификации на базе ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, из них, 6 публикаций в изданиях из перечня ВАК (РИНЦ и международная база данных Scopus – 3, РИНЦ – 3) получено два патента РФ на изобретения.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав с изложением результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованных сокращений и библиографического указателя, включающего 164 источника, в том числе 112 иностранных. Работа иллюстрирована 43 таблицами и 8 рисунками

ГЛАВА 1 – СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПАТОЛОГИИ, ИММУНИТЕТА, МИКРОБНОЙ КОЛОНИЗАЦИИ И АКТУАЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ВЫХАЖИВАНИЯ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ (обзор литературы)

1.1 – Медицинские и социально-экономические проблемы рождения недоношенных детей

Согласно определению ВОЗ преждевременными считаются роды, произошедшие до 37 недели гестации. В зависимости от срока гестации преждевременно родившиеся дети подразделяются на: рожденных крайне преждевременно (дети от сверхранних преждевременных родов); значительно преждевременно (дети от очень ранних преждевременных родов); умеренно и незначительно преждевременно (дети от преждевременных и поздних преждевременных родов) [10].

Средний общемировой уровень преждевременных родов (ПР) составляет 11,1 %, самые высокие показатели регистрируются в Индии (13 %), Китае (13 %), Нигерии (12,2 %) и других африканских странах [10, 86].

В 2018 году в Российской Федерации у 65,9 тысяч женщин беременность завершилась преждевременными родами (4,4 % от общего количества беременностей) и родилось 97,1 тысяч недоношенных детей. Показатель младенческой смертности за 2018 год, согласно данным федеральной службы государственной статистики, составил 5,1 на 1000 родившихся живыми, сократившись в 1,1 раза по сравнению с показателями 2017 года (5,7 на 1000 родившихся живыми), половина случаев из которых пришлась на неонатальный период [43], что соответствует общемировому уровню.

В подавляющем большинстве случаев этиологическим фактором летального исхода недоношенных детей являются асфиксия, инфекционные заболевания

(сепсис, пневмония, некротизирующий энтероколит (НЭК) и тяжелые перинатальные поражения центральной нервной системы (ЦНС) [160].

Следовательно, ликвидация причин неонатальной смертности играет первоочередную роль в ее снижении.

Таким образом, проблема недоношенности имеет большой социальный аспект для здравоохранения в целом, принимая во внимание высокую стоимость выхаживания, высокую частоту инвалидности у недоношенных детей, в особенности, имеющих экстремально низкую массу тела при рождении. Недоношенность новорожденных вносит существенный вклад в показатели, отражающие степень общего благосостояния общества, такие как младенческая и детская смертность, мертворождаемость, заболеваемость, материнская смертность, средняя продолжительность жизни.

1.2 – Заболеваемость недоношенных детей

Основными патологическими состояниями, характерными для недоношенных детей являются: респираторный дистресс-синдром, гипоксические поражения центральной нервной системы, гемодинамически значимый функционирующий артериальный проток (ГЗФАП), анемия недоношенных, бронхолегочная дисплазия (БЛД), ретинопатия недоношенных (РН), анемия.

Респираторный дистресс-синдром (РДС) новорожденного – это заболевание, которое при естественном течении возникает при рождении или сразу после рождения и нарастает в течение первых двух суток жизни.

Основной причиной РДС является дефицит сурфактанта, который созревает между 29 и 35 неделями беременности [23, 145]. Существуют два пути синтеза основного компонента сурфактанта – фосфатидилхолина. Первый (с участием метилтрансферазы) активно протекает с 20-24 по 33-35 неделю внутриутробного развития и истощается под влиянием гипоксемии, ацидоза, гипотермии. Второй (с участием фосфохолин-трансферазы), устойчивый к гипоксемии и ацидозу путь, начинает действовать только с 35-36-й недели гестации. У детей, рожденных до 36-й недели гестации, отмечается дефицит сурфактанта, и, чем меньше

гестационный возраст (ГВ) ребенка, тем выше частота развития РДС новорожденного. Частота развития РДС у детей 24-25 недель ГВ составляет 92 %, 26-27 недель ГВ – 88 %, 28-29 недель – 76 % ГВ и у детей 30-31 недели ГВ – 57 % случаев [73, 92].

Благодаря препаратам сурфактанта, в течение последних двадцати лет удалось снизить риск развития пневмоторакса и неонатальной смертности у новорожденных от РДС. Кроме сурфактантной терапии, лечение РДС включает в себя: профилактику гипотермии в родильном зале, отсроченное пережатие пуповины, использование СРАР терапии (СРАР – Continuous Positive Airway Pressure – постоянное положительное давление в дыхательных путях) как стартового метода респираторной поддержки [73].

С одной стороны, прогресс в лечении РДС, привел к улучшению показателей выживаемости недоношенных детей, с другой – способствовал увеличению частоты развития бронхолегочной дисплазии и ретинопатии [23].

Бронхолегочная дисплазия и ретинопатия являются частыми хроническими заболеваниями у новорожденных и грудных детей, родившихся с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ, масса тела менее 1000 г) и оказывающими долгосрочное влияние на качество жизни. Формирование бронхолегочной дисплазии и ретинопатии обусловлено действием как эндогенных (недоношенность, масса тела менее 2500 грамм, морфологическая незрелость – нарушение ангиогенеза), так и экзогенных факторов (искусственная вентиляция легких (ИВЛ) с высоким средним давлением, инфекция, дефицит питания) [24, 51, 110].

Согласно классификации Jobe А.Н., Bancalari Е. тяжесть и прогноз БЛД, включая неблагоприятные легочные исходы и задержку психомоторного развития, определяет степень кислородозависимости, оцененная в 36 недель постконцептуального возраста (ПКВ) у детей, родившихся с ГВ менее 32 недель; на 56-й день жизни у детей с ГВ более 32 недель [110].

Тяжесть ретинопатии определяется выраженностью сосудистых изменений. Для первой стадии (стадия I) характерно наличие демаркационной линии между

сосудистой и бессосудистой частями сетчатки. При второй стадии (стадия II) происходит рост демаркационной линии, формируется гребешок над плоскостью сетчатки. Во время третьей стадии (стадия III) возникает прорастание фиброваскулярной ткани из гребешка в стекловидное тело. Четвертая стадия (стадия IV) регистрируется в случае частичной отслойки сетчатки, которая может распространяться без вовлечения центральной ямки (стадия IVA), и с вовлечением центральной ямки (стадия IVB). Если происходит тотальная отслойка сетчатки, диагностируется пятая стадия ретинопатии недоношенных (стадия V) [64, 137].

Своевременный скрининг ретинопатии недоношенных является принципиальным фактором для назначения раннего лечения и улучшения исходов. Скрининг направлен на уменьшение частоты встречаемости ретинопатии, быстрое выявление случаев и оптимальное лечение ретинопатии недоношенных позволяет уменьшить ее тяжесть и число случаев детской слепоты [88].

Длительные последствия для будущей жизни недоношенных детей, клинически проявляющиеся в формировании разнообразных психоневрологических нарушений, оказывают перинатальные поражения центральной нервной системы, обусловленные перенесенной гипоксией и занимающие ведущее место в структуре перинатальных повреждений и являющиеся основной причиной инвалидности в будущем [1, 29, 74, 155].

Развитие церебральной ишемии у недоношенных новорожденных обусловлено морфо-функциональной незрелостью сосудистой сети, повышенной проницаемостью капилляров, отсутствием ауторегуляции мозгового кровотока [29].

Одной из наиболее известных форм гипоксически-ишемического поражения головного мозга является перивентрикулярная лейкомаляция (ПВЛ), характеризующаяся возникновением очагов коагуляционного некроза в перивентрикулярных зонах [9, 29]. Развитие ПВЛ более характерно для недоношенных детей от поздних преждевременных родов, причиной

возникновения которой является гипоперфузия в перивентрикулярном белом веществе, возникающая при снижении артериального давления (АД) при шоке, асфиксии, сепсисе, апноэ [80]. Клинически ПВЛ проявляется в виде спастического пареза конечностей и нарушении зрительных функций. Для детей от сверхранних преждевременных родов характерно развитие диффузной лейкомаляции, характеризующейся появлением очагов колликативного некроза, захватывающих не только перивентрикулярные области, но и центральные и субкортикальные отделы больших полушарий головного мозга [9].

Остается актуальной проблема внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) у новорожденных в силу своей широкой распространенности среди перинатальных поражений головного мозга. ВЖК приводят к развитию широкого спектра психоневрологических расстройств в детском возрасте. Развитию ВЖК способствуют антенатальные (внутриутробная инфекция, тяжелая преэклампсия, плацентарная недостаточность), интранатальные (отслойка плаценты, стремительные роды) и постнатальные факторы (ИВЛ с высоким положительным давлением на вдохе, нарушение температурного и охранительного режимов [6].

В основе патогенеза внутрижелудочковых кровоизлияний лежат особенности строения герминативного матрикса, отсутствие ауторегуляции мозгового кровотока и расстройства свертывающей системы крови [107].

Одним из патологических состояний, которое усугубляет тяжесть состояния недоношенных детей, является гемодинамически значимый функционирующий артериальный проток (ГЗФАП), частота которого находится в обратной зависимости от гестационного возраста. Среди детей, родившихся в сроке гестации 28-32 недели, частота встречаемости ГЗФАП составляет 10-20 %, а среди детей, родившихся ранее 28-й недели в 25-70 % случаев [4, 44].

В норме закрытие протока происходит в течение первых двух суток жизни, однако у детей с экстремально и очень низкой массой тела (ОНМТ, масса тела от 1000 до 1500 г) механизмы данного процесса нарушены [4, 134].

Известны консервативные (медикаментозное лечение с использованием нестероидных противовоспалительных препаратов) и хирургические методы

терапии ГЗФАП (эндоваскулярная окклюзия, торакотомия, клипирование или перевязка, торакоскопическое клипирование), но единого подхода в выборе того или иного способа лечения на сегодняшний день не существует. Выбор метода лечения определяется тяжестью состояния пациента, возрастом и массой тела [28, 44].

Перинатальная инфекционная заболеваемость до сих пор остается актуальной проблемой неонатологии и является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности новорожденных [37, 45, 78]. В 2010 году от инфекционных заболеваний, в том числе и от сепсиса, во всем мире умерло 7,6 миллионов детей в возрасте до 5 лет. От общего числа умерших 40 % пришлось на долю новорожденных [37, 89].

У новорожденных выделяют ранний неонатальный сепсис, возникающий в первые 72 часа жизни, и поздний неонатальный сепсис, развивающийся после первых трех суток постнатального возраста/ Факторами риска, опосредующими развитие сепсиса у новорожденных являются: недоношенность, молодой возраст матерей, мужской пол, экстремально и очень низкая масса тела, инфекционно-воспалительные заболевания матери во время беременности, преждевременное излитие околоплодных вод, длительный безводный период, при котором вероятность развития неонатального сепсиса в 7,4 раза выше. Основными возбудителями раннего сепсиса являются стрептококк группы В, кишечная палочка, золотистый стафилококк [78, 87, 148].

Уровень заболеваемости поздним сепсисом среди недоношенных детей остается достаточно высоким. Согласно зарубежным данным частота позднего сепсиса в крупных странах (Канаде, США, Германии, Франции, Израиле, Японии, Испании, Швеции, Швейцарии, Новой Зеландии и Австралии) колеблется от 5 % до 29,4 % [60, 68, 91, 97, 105, 121, 131, 132, 143, 146, 158].

Диагноз неонатального сепсиса основывается на клинической картине и лабораторных критериях (бактериологический посев крови, С-реактивный белок и прокальцитонин тест) [148].

Некротизирующий энтероколит также является одной из тяжелых патологий, характерной для недоношенных детей. Частота НЭК варьируется в пределах от 1,6 % до 7,1 % [94, 97, 105, 114]. Концепция НЭК, связанная с патологической колонизацией кишечника недоношенных детей, была введена Claud E.C. и Walker W.A. [66], утверждавшим, что, НЭК является результатом вторичного воспаления в ответ на микробную колонизацию кишечника условно-патогенными микроорганизмами. В нескольких исследованиях, проведенных на протяжении последнего десятилетия, устойчиво существовала теория, что причиной НЭК является один микроорганизм, однако в относительно недавнем исследовании M. Rammi, et al. (2017) было выявлено, что развитие НЭК вызывает ассоциация бактерий, а не один микроорганизм [84, 106].

Рассмотренная в данном разделе патология характерна для недоношенных детей, как правило имеет место сочетание нескольких патологических состояний.

1.3 – Формирование иммунных реакций и микробиомы кишечника недоношенных детей

Первым рубежом обороны от чужеродных патогенов является врожденный иммунитет, который является наиболее ранним механизмом защиты в эволюционном плане и по времени ответа. Предварительная активация врожденного иммунитета запускает реакции адаптивного [48]. Реализация врожденных иммунных реакций осуществляется посредством многих типов клеток. Клетки миелоидного ряда являются своеобразными эффекторами врожденного иммунитета. Основным компонентом пула миелоидных клеток являются моноциты [120]. Клетки, обуславливающие врожденную резистентность – фагоциты у недоношенных новорожденных отличаются сниженной активностью [12].

Наиболее важными мембранными молекулами моноцитов являются паттерн-распознающие рецепторы (PAMP), в частности – толл-подобные

рецепторы (TLR), ответственные за идентификацию наибольшего количества грамположительных и грамотрицательных бактерий [35, 48].

Следующий вид рецепторов, которые экспрессируются моноцитами являются Fc-рецепторы. Моноциты – единственный тип клеток, спонтанно экспрессирующих CD64, который активирует распознавание чужеродных агентов, высвобождение медиаторов воспаления, клеточную цитотоксичность, активацию В-клеток и фагоцитоз [122]. Течение инфекционного процесса у детей с генерализованным инфекционным процессом сопровождается повышенной экспрессией CD64. Необходимо отметить, что CD64 имеет более высокий уровень экспрессии у недоношенных детей при рождении по сравнению с доношенными [52].

На поверхности моноцитов присутствуют рецепторы для комплемента (CR), благодаря которым моноциты распознают фрагменты компонентов комплемента, прикрепленные к поверхности патогенов. Большинство рецепторов распознает фрагменты C3b и C3d – CR3 (CD11b/CD18 или Mac-1) и CR4 (CD11c/CD18 или p150,95), которые способствуют идентификации клеток-мишеней фагоцитами и поставляют в клетки активационные сигналы. Кроме того, β 2-Интегрины (Mac-1 и p150,95) помогают осуществлять процессы межклеточного взаимодействия [59].

Одним из основных маркеров поздней активации является рецептор HLA-DR+, уменьшение экспрессии которого коррелирует с риском развития инфекционного процесса. У новорожденных в целом, экспрессия HLA-DR+ на моноцитах ниже, чем у взрослых, что подтверждается рядом зарубежных авторов [136, 141].

Микробиота кишечника опосредует реакции врожденной иммунной системы у новорожденных [72, 120, 153]. Патогенная кишечная микрофлора активирует рецепторы на поверхности моноцитов, которые посредством запуска сигнальных каскадов индуцируют транслокацию ядерного фактора «каппа-би» (NF- κ B), стимулирующего, в свою очередь, транскрипцию различных провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [59]. Многочисленные исследования

показали, что рецепторы моноцитов реагируют на бактериальные пептидогликаны грамположительных и липополисахариды грамотрицательных бактерий. Экспрессия рецепторов в кишечнике недоношенных детей значительно выше, чем у доношенных. По данным ряда исследований отмечается, что рецепторы моноцитов экспрессируются в кишечнике плода на высоком уровне, который остается высоким и после рождения, ввиду заселения кишечника условно-патогенными микроорганизмами, происходит еще большая активация моноцитарного звена. Что, в свою очередь, способствует развитию НЭЖ, и возникновению бактериальной транслокации у недоношенных детей на фоне морфо-функциональной незрелости кишечника, дефицита бифидобактерий и активации патогенной микрофлорой IL-8, который способствует миграции нейтрофилов в область кишечника, где они подвергаются фагоцитозу, а последующий воспалительный ответ, вызывает спазм сосудов и ишемию кишечной стенки [93, 98, 147, 149, 156].

Одним из эффективных защитных механизмов от инвазии микроорганизмов в стенку кишечника является внедрение через эпителий в слизистый слой секреторного иммуноглобулина А (sIgA), в составе которого обнаруживаются антитела против микроорганизмов. Секреторный IgA блокирует транслокацию бактерий на уровне слизистой оболочки и препятствует их прохождению в нижележащее пространство стенки кишечника [56, 101].

Наличие в составе sIgA антител к микроорганизмам свидетельствует о том, что, несмотря на слизистый механический барьер, они сами или их компоненты контактируют с мукозоассоциированной лимфойдной тканью и индуцируют гуморальные адаптивные иммунные ответы. Отсутствие нормофлоры приводит к снижению продукции sIgA и размера пейеровых бляшек, где располагаются плазматические клетки, его синтезирующие [140].

Микробиота кишечника недоношенных детей разительно отличается от доношенных новорожденных. В ряде работ, посвященных анализу фекального протеома, была зарегистрирована низкая бактериальная нагрузка до второй постнатальной недели у недоношенных детей, рожденных с массой тела 630-

1750 г и гестационным возрастом 25-30 недель. В результате проведенных исследований авторы пришли к выводу, что гестационный возраст ребенка отрицательно коррелирует с кишечной микробиотой. Так, низкая бактериальная нагрузка в первые две недели жизни приводила к дальнейшей отсрочке бактериальной колонизации у детей, рожденных в сроке 25-27 недель. По сравнению с новорожденными большего срока гестации. У всех недоношенных детей факультативные анаэробы преобладали в составе кишечной микрофлоры в течение первого месяца жизни, колонизация облигатными анаэробами наступала позднее, к постконцептуальному возрасту 33-36 недель. Доминирование бифидобактерий наступало позже, чем у доношенных, родившихся естественным путем и получающих грудное вскармливание с рождения [58].

На формирование микрофлоры оказывает влияние множества факторов: тип родоразрешения, характер вскармливания, применение современных методик ухода (метод «кенгуру») и проведение санитарно-гигиенических мероприятий [70, 77, 133].

Наряду с большим количеством работ, посвященных изучению кишечной микрофлоры, публикаций, касающихся микробного пейзажа ротовой полости, кожи, верхних дыхательных путей как у доношенных, так и у недоношенных детей, в отечественной и зарубежной литературе встречается крайне мало, что представляет интерес для будущих исследований.

1.3.1 – Влияние орофарингеального введения молозива на реализацию иммунных реакций

Особая роль в выживании отводится вопросам питания недоношенных. Концепция грудного вскармливания Всемирной организации здравоохранения свидетельствует, что грудное вскармливание должно начинаться в первый час жизни ребенка [10, 159]. Позднее начало грудного вскармливания (через 2-23 часа после рождения) увеличивает риск смерти ребенка в 1,3 раза в первые 28 дней жизни [159]. Помимо питательных веществ, грудное молоко содержит большое

количество защитных иммунологических компонентов, которые запускают каскад иммунных реакций у новорожденного [3, 129, 138]. Возможность грудного молока обеспечивать антиинфекционную защиту связана с его составом и способностью адаптироваться под постоянно меняющиеся потребности ребенка в течение первого года жизни. Изменения в составе грудного молока происходят в процессе лактации, а также на протяжении суток и даже одного кормления. Эти качества обусловлены феноменом, который заключается в обеспечении баланса между возможностями организма матери удовлетворить нужды ребенка и способностями его организма максимально полно и эффективно усвоить все необходимые нутриенты. Грудное вскармливание помогает ребенку формировать адекватные ритмы сна и бодрствования, которые еще не установлены у ребенка первых трех месяцев жизни. Доказан профилактический эффект грудного вскармливания в отношении многих патологических состояний: инфекционно-воспалительных заболеваний, сахарного диабета, ожирения, атеросклероза, болезни Крона и других заболеваний [160].

Первым секретом, который синтезируется молочными железами в первые дни после родов, является молозиво. Энергетическая ценность молозива, намного больше, так как плотность питательных веществ в нем гораздо выше, чем в грудном молоке, а содержание жидкости меньше. Кроме того, молозиво обладает слабительным свойством, способствуя моторике кишечника и отхождению мекония. В молозиве содержатся преимущественно легкоусвояемые белки (альбумины и глобулины), антиоксиданты (витамины А, Е, бета-каротин), малое количество казеина, лактозы, эмульгированных жиров. Кроме того, концентрация иммунных компонентов, таких как: секреторный IgA, лактоферрин, лейкоциты, макрофаги, лизоцим, цитокины - интерферон α , интерферон γ , IL-2, IL-6, лизоцим, муцин, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, в молозиве значительно больше, что обеспечивает защитную функцию новорожденных [32]. В связи с этим, грудное молоко является оптимальным продуктом питания недоношенных и больных детей, находящихся в условиях неонатальных подразделений.

Однако осуществление раннего начала грудного вскармливания у недоношенных детей затруднено, ввиду тяжелого состояния при рождении, необходимости проведения комплекса первичной реанимационной помощи, что в свою очередь увеличивает риск неблагоприятных клинических исходов в будущем [160]. В зарубежных источниках опубликованы данные о внедрении орофарингеального метода введения молозива, которые встречаются в изданиях, начиная с 2010 года [112, 127, 128, 129]. Отечественных исследований о применении метода орофарингеального введения молозива нами не обнаружено.

Пилотное применение метода орофарингеального введения молозива было проведено в 2010 году Nancy A. Rodriguez, et al. Недоношенным новорожденным с ЭНМТ вводилось предварительно размороженное молозиво, с помощью туберкулинового шприца по 0,1 мл в течение 2 минут с каждой стороны щеки, по направлению к ротоглотке, манипуляцию осуществляли каждые 2 часа, начиная с 48 часов жизни. Экспериментальное исследование показало, что ротоглоточное введение молозива было безопасно для детей. Во время применения метода показатели жизненно важных функций (частота сердечных сокращений, артериальное давление, сатурация) оставались стабильными [128].

В последующем опыт был проведен через 5 лет группой корейских ученых. В исследовании участвовали 42 ребенка, родившихся с в сроке гестации 28 недель и меньше с ЭНМТ. Испытуемые получали по 0,1 мл, предварительно размороженного молозива или стерильной воды с каждой стороны щеки, не менее 10 секунд начиная с 48 часов жизни ребенка по достижению возраста 96 часов. Авторами было установлено повышение концентрации лактоферрина в моче, увеличение продукции секреторного IgA в слюне и сниженное содержание провоспалительного цитокина IL-1 β на 1-й неделе жизни у новорожденных, получивших методику орофарингеального введения молозива. Об эффективности использования данной методики свидетельствовало снижение частоты клинического сепсиса. Показатели витальных функций при выполнении каждого введения оставались стабильными [112].

В работе Glass K.M., et al., проведенной в 2017 году, было установлено, что содержание sIgA в моче на 7 и 14 сутки жизни статистически значимо превышало показатели группы, в которой дети не получали молозиво после рождения [127].

Практическое применение метода в 2019 году, показало, что при орофарингеальном введении молозива наблюдался низкий рост бактерий рода *Klebsiella* в ротовой полости, отмечалось снижение частоты развития госпитальных пневмоний, уменьшение частоты расстройств питания [129].

Таким образом, анализ литературных данных показал, что, несмотря на определенные успехи, полученные в неонатальной практике, проблема выхаживания недоношенных детей и на сегодняшний день остается актуальной. Исследованы причины, вызывающие преждевременные роды, патологические состояния, возникающие в перинатальном периоде у недоношенных детей и их осложнения. Представленные в литературе данные, по изучению метода орофарингеального введения молозива касаются некоторых аспектов оценки клинического состояния, без учета его влияния на иммунологические показатели недоношенных новорожденных, что определяет актуальность проведения данных исследований.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ, ИЗЛОЖЕННЫМ В ГЛАВЕ 1.

Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и индексируемых в международной базе данных Scopus:

1. Выхаживание недоношенных детей с использованием современных технологий ухода / К.П. Шакирова, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, Л.С. Устьянцева, В.Е. Рюмин // Лечение и профилактика. 2020. Т.10, № 1. С. 36-40. (ВАК, ИФ РИНЦ – 0,288).

Глава 2 – МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 – Материалы работы и структура исследования

Все роды проходили на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – д.м.н. Мальгина Г.Б.), в период с 2017 по 2019 гг.

Лабораторные исследования проводились на базе клинико-диагностического отделения (заведующая – к.б.н. Пестряева Л.А.) и отделения иммунологии и клинической микробиологии, патоморфологии (руководитель – профессор, д.м.н. Чистякова Г.Н.).

Для достижения поставленной цели и решения задач, проведена двухэтапная система исследования. На первом этапе было проведено проспективное сравнительное когортное обследование 90 детей, которые были подразделены на категории в зависимости от срока гестации, согласно критериям деления преждевременно родившихся детей Всемирной организации здравоохранения [10]:

1-я группа – 28 детей, родившихся в сроке гестации 24-27 недель 6 дней включительно (дети от очень ранних или сверхранних преждевременных родов);

2-я группа – 29 детей, родившихся в сроке гестации 28-31 неделя 6 дней включительно (дети от ранних преждевременных родов);

3-я группа – группа сравнения, 33 ребенка, родившихся в сроке гестации 32-36 недель 6 дней включительно (дети от преждевременных и поздних преждевременных родов).

Критерии включения: недоношенные дети, родившиеся в сроке гестации 24-36 недель 6 дней включительно.

Критерии исключения: врожденные пороки развития, генетические и хромосомные заболевания, гемолитическая болезнь новорожденного, дети от женщин с сахарным диабетом I и II типа, дети от многоплодных беременностей.

На втором этапе проведена оценка эффективности орофарингеального введения молозива (2018-2019 гг.), в ходе которого было выполнено сравнительное рандомизированное исследование 39 недоношенных детей с экстремально низкой массой тела, рожденных в сроке гестации 24-27 недель 6 дней включительно. Дети были поделены на группы в зависимости от применения орофарингеального введения молозива: 1-я группа – получающие орофарингеально молозиво (19 детей), 2-я группа – не получающие молозиво (20 детей).

Проверку эффективности способов раннего прогнозирования инфекции перинатального периода и неонатальной пневмонии проводили на независимой экзаменационной выборке, состоящей из 45 недоношенных детей с ЭНМТ и ОНМТ, родившихся в сроке гестации 24-31 неделя 6 дней включительно.

Все недоношенные новорожденные, родившиеся в сроке гестации 24-36 недель 6 дней включительно, выхаживались в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных (заведующий ОРИТН – заслуженный врач РФ, к.м.н. Русанов С.Ю.) и отделении патологии новорожденных и недоношенных детей № 1 (заведующая ОПННД № 1 – к.м.н. Ширяева Е.К.), а также в отделении новорожденных и недоношенных детей новорожденных № 2 (заведующая ОПННД № 2 – к.м.н. Плюснина Н.Н.).

Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ, от всех женщин получено информированное согласие на использование биологического материала в научных целях.

Все недоношенные дети, участвующие в исследовании, наблюдались с момента рождения и до достижения постконцептального возраста 37-40 недель. Постконцептуальный возраст представляет собой сумму гестационного и постнатального возраста в неделях. Постконцептуальный возраст 37-40 недель – это возраст недоношенных детей, когда они достигают возраста доношенного ребенка после рождения.

2.2 – Характеристика лечебных мероприятий, проводимых недоношенным детям

Все дети получали обязательный комплекс лечебных мероприятий согласно клиническим рекомендациям, который включал в себя: респираторную поддержку, антигеморрагическую терапию, антимикотическую терапию, аналептическую терапию, проведение парентерального питания [5, 16, 30].

Недоношенные новорожденные, в особенности с экстремально низкой и очень низкой массой тела, подвержены риску реализации инфекционно-воспалительных заболеваний в раннем неонатальном (с момента рождения до 7-х полных суток жизни) и позднем неонатальном периоде (с 7 полных суток до 28 полных суток жизни). Характерно развитие таких заболеваний как пневмония (код по МКБ 10 P23 и J18), бактериальный сепсис (код по МКБ 10 P36), также довольно часто регистрируется инфекция перинатального периода, неуточненная (код по МКБ 10 P 39.9). Диагностика последней основывается на данных анамнеза матери (наличие длительного безводного промежутка, хориоамнионита, хронической внутриматочной инфекции, бактериурии, температуры в родах и перед родами, пессария и шва на шейке матки во время беременности, антибактериальной терапии в родах и перед родами), клинических проявлений инфекционного процесса и лабораторных признаков системного воспалительного ответа у ребенка. Учитывая высокие риски реализации инфекционного процесса, для недоношенных детей актуален вопрос о критериях назначения антибактериальной терапии. Единого клинического протокола по проведению антибактериальной терапии у новорожденных в России не существует и ее тактика должна быть регламентирована в каждом конкретном учреждении родовспоможения. В ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ «Протокол антибактериальной терапии для неонатальных подразделений» был принят в 2015 г. Согласно данному протоколу, назначение антибактериальной терапии после рождения показано следующим категориям новорожденных: детям, имеющим экстремально низкую и очень низкую массу тела при рождении; детям, потребовавшим

проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ); детям с массой тела более 1500 г, имеющим факторы риска реализации инфекционного процесса со стороны матери, имеющим дыхательные нарушения с необходимостью проведения неинвазивной респираторной поддержки. Всем новорожденным до назначения антибактериальных препаратов обязательно проведение первичного микробиологического исследования крови и трахеобронхиального аспирата (у детей на ИВЛ). Кроме того, обязательно выполнение первичного лабораторного и инструментального обследования, включающего в себя: исследование клинического анализа крови и мочи, С-реактивного белка, проведение рентгенографического исследования органов грудной полости [34].

Большинство недоношенных детей, которые приняли участие в исследовании, попадали под критерии назначения защищенных пенициллинов в сочетании с аминогликозидами сразу же после рождения. По истечению 48 часов жизни рассматривался вопрос о продолжении или деэскалации антибактериальной терапии. При условии достижения стабилизации состояния ребенка, нормальных показателей С-реактивного белка, отсутствия воспалительных изменений по данным общего анализа крови, отрицательной гемокультуры, позитивной рентгенологической картине, отсутствии инфильтративных теней в легких, антибактериальная терапия отменялась. В случае отсутствия убедительной положительной динамики в клинической картине спустя 48 часов жизни на фоне проводимой стартовой схемы, отсутствия снижения С-реактивного белка в динамике наблюдения, продолжался минимальный курс предписанной антибактериальной терапии с дальнейшей динамической оценкой состояния. После окончания минимального курса вопрос о необходимости продолжения антибиотикотерапии решался коллегиально. В случае наличия отрицательной динамики в состоянии, клиники септического шока, кровотечениях, повышении лабораторных маркеров инфекционного процесса спустя 48 часов проведения стартовой схемы, проводился повторный курс антибактериальной терапии с использованием карбопенемов, гликопептидов [34].

В случае выявления микроорганизмов при бактериологическом исследовании крови по результатам первичного обследования, антибактериальная терапия проводилась с учетом чувствительности возбудителя к антибактериальным препаратам [34].

2.3 – Комплекс стандартного обследования и методы исследования

В работе использовался ретроспективный анализ медицинской документации (индивидуальные обменные карты беременных женщин, истории родов, истории развития и болезни новорожденных).

Перспективно оценивались:

- шкала Апгар на первой и пятой минутах жизни (V. Apgar, 1952) [18];
- гестационный возраст в первые сутки жизни по шкале Баллард (Jeanne L. Ballard, 1979) [38];
- анализ антропометрических показателей с учетом гестационного возраста при рождении и по достижению ПКВ 37-40 недель с использованием графиков роста для недоношенных мальчиков и девочек (Fenton T., 2013) [85];
- длительность пребывания в родильном доме, реанимационные мероприятия и реабилитация на втором этапе выхаживания, заболеваемость в период ранней постнатальной адаптации;
- лабораторные и инструментальные методы исследования.

Комплекс стандартного обследования, который проводился всем недоношенным детям согласно приказу Министерства здравоохранения РФ от 10 мая 2017 г. № 203н "Об утверждении критериев оценки качества медицинской помощи", включал в себя: исследование общего анализа крови с формулой, определение уровня С-реактивного белка, биохимическое исследование крови, измерение газов крови и кислотно-основного состояния, бактериологическое исследование крови на стерильность (дополнительно к бактериологическому исследованию крови на стерильность) проводили оценку микробиоценоза наиболее важных биотопов организма: микрофлора толстого кишечника, носовой

полости, ротоглотки и кожи, проведение нейросонографии, эхокрадиографии, ультразвукового исследования внутренних органов, рентгенологического обследования органов грудной полости.

2.3.1 – Стандартные лабораторные и инструментальные исследования

Гематологические. Исследование общего клинического анализа периферической крови (уровень гемоглобина, количество эритроцитов, тромбоцитов, гематокрит, средний объем эритроцита, количество лейкоцитов и лейкоцитарная формула) проводилось на гематологическом анализаторе «Mindray BC-5300» и «Mindray BC-5150» (Китай).

Биохимические. Оценка уровня глюкозы в сыворотке крови осуществлялась глюкозооксидазным методом, общего белка - биуретовым методом, С-реактивного протеина – методом иммунотурбидиметрии, печеночных трансаминаз – УФ методом, билирубина – методом окисления с ванадатом, мочевины – методом реакции с уреазой, креатинина – методом реакции с саркозиноксидазой. Исследование проводилось с помощью автоматического биохимического анализатора «Mindray BS-200E» (Китай) и тест-наборов фирмы «Mindray» (Китай).

Определение кислотно-основного состояния, парциального напряжения газов крови, уровня электролитов проводили с помощью автоматической системы определения ионного и газового состава крови «GemPremier 3100» производства фирмы «InstrumentationLaboratoryCo» (США) и реактивов того же производителя. Анализировались следующие параметры: кислотность крови (рН), парциальное напряжение углекислого газа (рСО₂) и кислорода (рО₂), содержание буферных оснований во внеклеточной жидкости (ВЕ), концентрацию стандартного бикарбоната (сНСО₃⁻), содержание ионов натрия (Na⁺), калия (K⁺), кальция (Ca⁺⁺).

Бактериологические. Культуральным методом в соответствии с приказом №535 от 22 апреля 1985 года «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клиничко-

диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» и № 263 от 20 июня 2016 года ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ осуществляли посев фекалий, содержимого ротоглотки, носовой полости, материала с кожи заушной складки. Также в рамках исследования проводилось микробиологическое исследование молозива и грудного молока. Забор фекалий в количестве 1 грамм осуществляли в стерильные лабораторные контейнеры для взятия проб биологического материала с завинчивающейся крышкой и ложкой. Отделяемое ротоглотки, носовой полости, материал с кожи заушной складки, пробы молозива и грудного молока собирали в пробирки с транспортной средой «Amies с углем» (Китай). Взятие материала осуществлялось в соответствии с правилами асептики. Видовую идентификацию выделенных микроорганизмов проводили с использованием бактериологического автоматического анализатора VITEK 2 compact (Bio Mérieux, Франция) согласно инструкции производителя.

Инструментальные исследования. Рентгенологическое исследование органов грудной полости проводили при помощи рентгенологического аппарата TМXR⁺ (США).

Ультразвуковые методы исследования. Нейросонография с цветовой и импульсной доплерографией сосудов головного мозга выполнялась на аппаратах LOGIQe (GEMedicalSystems (Китай) Co., LTD) и «PHILIPS HD 15» («Филипс Ультрасаунд, Инк.», США) датчиком S8-3 по стандартной методике. Оценивалось состояние паренхимы головного мозга, выраженность извилин, желудочковая система, цистерны и субарахноидальное пространство, наличие кровоизлияний, кист. ЭхоКГ проводилась на аппаратах LOGIQ e (GE Medical Systems (China) Co., LTD) и «PHILIPS HD 15» («Филипс Ультрасаунд, Инк.»,США) с возможностью цветного картирования и доплерографией в М- и В-режимах с использованием секторного датчика с фазированной решеткой S8-3 (с частотой 8-3 МГц) и конвексного датчика С6-3 (с частотой 6-3 МГц) по стандартной методике. Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости проводилось на аппаратах LOGIQ e (GE Medical Systems (Китай) Co., LTD) и «PHILIPS HD 15» («Филипс Ультрасаунд, Инк.», США) по стандартной методике.

2.3.2 – Обоснование проведения и методы оригинальных исследований

Метод орофарингеального введения молозива. Раннее начало грудного вскармливания способствует наилучшему развитию и здоровью недоношенных маловесных детей, согласно рекомендациям ВОЗ [160]. Однако, учитывая тот факт, что состояние детей с очень низкой массой тела и экстремально низкой массой тела после рождения тяжелое и требует стабилизации, невозможно непосредственное прикладывание к груди матери.

В клинических рекомендациях по оптимизации питания детей первого года жизни существуют указания о том, что в случае отсутствия возможности прикладывания ребенка к груди, мать следует обучить технике ручного или аппаратного сцеживания и начать его в первый час после рождения ребенка. Однако, ввиду того что большинство женщин в сроке сверхранных и ранних преждевременных родов родоразрешают оперативным путем, они не в состоянии сами осуществить сцеживание молозива в первые часы жизни ребенка. Поэтому необходимо осуществление орофарингеального введения молозива всем недоношенным детям менее 32 недель гестации в условиях оперативно-родового блока и в первые часы жизни в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных, до того момента пока не будет достигнута стабилизация состояния, что позволит начать полноценные энтеральные кормления через зонд [33].

Рекомендаций по осуществлению метода орофарингеального введения в настоящее время на территории Российской Федерации не разработано. Представленный нами способ был выполнен на основании зарубежных исследований, изучающих влияние данного метода на клинические исходы и иммунологические параметры недоношенных детей [112, 128, 127, 129].

Прототипом способа, предложенного нами, явился опыт использования орофарингеального введения молозива предложенный Nancy A. Rodriguez, et al. [128]. Использованный способ двукратного орофарингеального введения

молозива недоношенным новорожденным был запатентован [Патент РФ (11) 2 709 258 (13) С1: Способ ротоглоточного (орофарингеального) двукратного введения молозива недоношенным детям с экстремально низкой массой тела / Г.Н. Чистякова, К.П. Шакирова, И.И. Ремизова, Л.С. Устьянцева, С.В. Бычкова // Федеральная служба по интеллектуальной собственности. 17.12.2019. Бюллетень № 35. С. 1-13.] и одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ, от всех женщин получено информированное согласие на использование данного метода в научных целях.

Проведение процедуры. Сцеживание молозива из груди матери производилось в операционно-родовом блоке, после извлечения ребенка предварительно обработанными перед манипуляцией руками в стерильных перчатках в стерильный одноразовый пластиковый контейнер с крышкой.

Первичное введение молозива в объеме по 0,35 мл (7 капель) проводилось в операционно-родовом блоке через 30-40 минут после рождения ребенка с помощью пластиковой одноразовой стерильной Пастеровской пипетки вдоль слизистой правой и левой щеки по направлению к ротоглотке с каждой стороны в течение 2 минут. Повторное введение молозива осуществлялось в течение первых 6 часов жизни. Манипуляцию проводил врач-неонатолог (рисунок 1).



Рисунок 1 – Орофарингеальное введение молозива новорожденному

Иммунологические методы. Оригинальные исследования, которые использовались при проведении данной диссертационной работы, были представлены определением относительного и абсолютного числа моноцитов и

нейтрофилов в крови, измерением уровня экспрессии маркеров активации моноцитов CD14+CD282+ и CD14+CD284+, CD14+HLA-DR, CD14+CD64+, CD14+CD11b+, CD14+CD11c+. Экспрессия данных рецепторов на клетках миелоидного ряда имеет важное значение в системном реагировании при бактериальном повреждении, активации механизмов врожденного иммунного ответа. Толл-подобные рецепторы – CD14+CD282+ и CD14+CD284+ осуществляют распознавание бактериальных патогенов [48]. Уровень экспрессии CD14+HLA-DR+, отвечающего за антигенпрезентирующую функцию, отражает иммунный статус человека, и считается одним из ключевых показателей иммунитета при синдроме системного воспалительного ответа и сепсисе [95, 96]. CD14+CD64+ обеспечивает взаимодействие моноцитов с антигенами, что приводит к запуску сигнала в клетках и последующим иммунным реакциям, таким как: высвобождение медиаторов воспаления, активация В-клеток, эндоцитоз, фагоцитоз и антителозависимая клеточная цитотоксичность. Способность опосредовать фаготоксическую эффекторную функцию служит потенциальным механизмом, при помощи которого антитела реализуют противoinфекционную защиту [123]. CD14+CD11b+ и CD14+CD11c+ являются молекулами адгезии, опосредуют прилипание моноцитов к стимулированному эндотелию и фагоцитозу частиц, покрытых комплементом [59].

Определение численности клеточных популяций основывалось на идентификации специфичных рецепторов, экспрессирующихся на поверхности клеток. Фенотипирование популяций моноцитов в пуповинной и периферической крови, осуществлялось путем двухцветного окрашивания (FITC – флуоресцеин изотиоцианат, PE – фикоэритрин) моноклональными антителами.

После лизирования излишних клеточных компонентов, проводили несколько циклов отмывки. Далее исследуемые образцы анализировались методом проточной цитометрии на цитофлуориметре «FACS Calibur» фирмы «Becton Dickinson» (США), в ходе которого устанавливалось относительное содержание изучаемой популяции от числа всех лейкоцитов, гейтируемых на цитометре и проведено определение уровня экспрессии рецепторов

CD14+CD282+, CD14+CD284+, CD14+HLA-DR, CD14+CD64+, CD14+CD11b+, CD14+CD11c+.

Определение фагоцитарной активности моноцитов и гранулоцитов производилось с использованием методики Phagotest (Glycotop, Германия). В основе методики количественное определение лейкоцитарного фагоцитоза – доли гранулоцитов и моноцитов пуповинной и периферической крови, способных к поглощению опсонизированных бактерий *Escherichia coli*, меченых флуоресцеином с использованием сине-зеленого излучения (488 нм аргоновый лазер), анализировали процент фагоцитирующих моноцитов и гранулоцитов. Абсолютное количество фагоцитирующих клеток рассчитывалось исходя из общего количества лейкоцитов и процента всей популяции моноцитов и гранулоцитов.

С целью оценки определения содержания секреторного IgA и цитокинов TNF- α и IL-4 проводили иммуноферментный анализ. В качестве субстрата для исследования данных биологических маркеров у детей был выбран копрофильтрат. При определении sIgA в копрофильтратах был использован экстрагирующий раствор IDK Extract (производитель Immunodiagnostik AG). Образец фекалий массой 15 мг подвергали механической гомогенизации. Пробирку с образцом наполняли экстрагирующим буфером 1,5 мл, закрывали, взбалтывали до однородного состояния. По истечении 10 минут разбавляли в соотношении 1:125 промывочным буфером. Дополнительно в исследовании была проведена оценка уровня sIgA в молозиве и грудном молоке.

Для определения цитокинов в копрофильтрате пробу фекалий в количестве 100 мг помещали в стерильную пробирку (на 10 мл), вносили 5,0 мл физиологического раствора (NaCl 0,9 %) и интенсивно встряхивали до образования гомогенной взвеси. Далее переносили 2,0 мл гомогената в микроцентрифужную пробирку и центрифугировали 5 минут на микроцентрифуге со скоростью 3000 об/мин, затем отбирали супернатант в чистую помеченную пробирку.

Выбор вышеназванных цитокинов был обусловлен определением индекса смещения цитокинового баланса. Общеизвестно, что развитие иммунного ответа в направлении клеточных (Th1-типа) или гуморальных (Th2-типа) реакций определяется балансом про- и противовоспалительных цитокинов. К основным представителям Th1-цитокинов относят TNF- α , IL-1 и IL-6; Th2 – IL-4 и IL-10. В период запуска воспаления TNF- α , продуцирующийся моноцитами и макрофагами индуцирует продукцию других провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IFN- γ), обладающих синергидным с TNF- α действием. Местная продукция TNF- α в очаге инфекции или воспаления обеспечивает хемотаксис гранулоцитов и моноцитов в очаг, усиление фагоцитоза и микробицидности фагоцитов, усиленную их дегрануляцию, продукцию и секрецию реактивных кислородных радикалов (супероксидных и нитроксидных), повышенную цитотоксичность фагоцитов.

IL-4 продуцируется преимущественно Т-лимфоцитами, относящимися к субпопуляции Th2. Основные функции – ингибция продукции провоспалительных цитокинов (IL-1, TNF- α).

В литературе имеются данные о наличии цитокинового дисбаланса у пациентов с дисбиотическими нарушениями в фекалиях [21] и копрофильтратах [22, 42]. Также установлено, что уровень провоспалительных цитокинов при шигеллезе коррелирует с тяжестью заболевания [71].

Уровень sIgA в копрофильтратах, молозиве и грудном молоке оценивали с использованием тест-систем «Immundiagnostik» (Германия), содержание TNF- α и IL-4 в копрофильтратах с помощью тест систем Вектор-Бест (Россия).

Детекцию результатов исследования проводили на иммуноферментных анализаторах «Victor» фирмы «LKBWallac» и «Multiskan MCC/340» фирмы «Labsystems» (Финляндия).

2.4 – Сроки проведения исследований

Общий анализ крови с формулой, биохимическое исследование крови, измерение газов крови и кислотно-основного состояния выполнялись в возрасте 1-х суток, 7-10-х суток и ПКВ 37-40 недель.

Уровень С-реактивного белка – на 1-е сутки жизни.

Экспрессия маркеров активации моноцитов CD14+CD282+, CD14+CD284+, CD14+HLA-DR, CD14+CD64+, CD14+CD11b+, CD14+CD11c+, определение относительного и абсолютного числа моноцитов и нейтрофилов проводилось в пуповинной крови при рождении и в периферической крови по достижению ПКВ 37-40 недель.

Исследование содержания секреторного IgA, цитокинов TNF- α и IL-4 в копрофильтратах выполнялось на 1-е сутки жизни, 7-10-е сутки жизни и в ПКВ 37-40 недель. Исследование содержания секреторного IgA в молозиве на 1-е сутки, в грудном молоке на 7-10-е сутки после родов и при достижении ребенком ПКВ 37-40 недель.

Бактериологическое исследование микрофлоры толстого кишечника, носовой полости, ротоглотки и кожи проводилось на 1-е сутки жизни, 7-10-е сутки, ПКВ 37-40 недель. Микробиологическое исследование крови проводилось в возрасте первых суток жизни после рождения ребенка до начала проведения антибактериальной терапии. Далее по показаниям (в тех случаях, когда в первичном обследовании регистрировалось выделение микрофлоры, либо при подозрении на поздний сепсис). Бактериологическое исследование содержимого трахеобронхиального дерева (ТБД) проводилось на 1-е сутки, 7-10-е сутки жизни, при условии, что ребенок находился на ИВЛ.

Рентгенологическое исследование органов грудной полости проводилось на 1-е сутки, 7-10-е сутки жизни и ПКВ 37-40 недель врачом – рентгенологом Каштановой Г. М.

Нейросонографическое исследование (НСГ) проводилось на 1-е сутки, 7-10-е сутки и в ПКВ 37-40 недель (врач анестезиолог-реаниматолог, врач

ультразвуковой диагностики, к.м.н. Половова Т.А.). Осмотр врача-невролога осуществлялся на 1-е сутки, 7-10-е сутки жизни и в ПКВ 37-40 недель (врач-невролог, заслуженный врач РФ Воронина Л.И.).

Ультразвуковое исследование (УЗИ) внутренних органов, ЭхоКГ проводились на 1-е сутки, 7-10-е сутки и в ПКВ 37-40 недель (врач анестезиолог-реаниматолог, врач ультразвуковой диагностики, к.м.н. Половова Т.А., врач ультразвуковой диагностики, к.м.н. Краева О.А.).

2.5 – Статистические методы исследования

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 16.0 для Windows 8, Statistica 6.0, IBM SPSS Statistics 23. В случае подчинения признака закону нормального распределения данные представляли в виде средней величины (M) и стандартной ошибки средней (SD). В случае несоответствия признака закону нормального распределения данные представляли в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го перцентилей, P25 и P75). Проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков осуществляли с помощью непараметрического критерия Краскела-Уоллиса, при отклонении нулевой гипотезы в ходе анализа проводили попарное сравнение групп, при попарных сравнениях использовали U-критерий Манна-Уитни. Уровень значимости (p) с учетом поправки Бонферрони принимали равным или менее 0,017. Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали относительную величину в процентах, с использованием точного критерия Фишера.

Направление и силу связи признаков определяли методом корреляционного анализа с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Корреляционную связь с коэффициентом корреляции $|r| = 1-0,75$ расценивали как сильную, $|r| = 0,75-0,25$ – как умеренную и $|r| < 0,25$ – как слабую.

Структура и объем исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Структура и объем исследований

№ п/п	Методы	Виды	Количество исследований
1.	Анамнестические	Проспективный анализ документов (изучение обменных карт беременных, историй течения родов, историй болезни и развития новорожденных).	129 258
2.	Гематологические	Гемоглобин, гематокрит, количество форменных элементов периферической крови.	339
3.	Биохимические	Общий белок, глюкоза, С-реактивный протеин, билирубин, трансаминазы, мочевины, креатинин.	339
4.	Анализ газов крови и кислотно-основного состояния	pH, pCO ₂ , pO ₂ , BE, сHCO ₃ ⁻ , Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺⁺	339
4.	Иммунологические	CD14+CD282+, CD14+CD284+, CD14+HLA-DR, CD14+CD64+, CD14+CD11b+, CD14+CD11c+, sIgA в копрофильтратах, молозиве и грудном молоке, TNF-α и IL-4 в копрофильтратах	880
5.	Микробиологические	Исследование бактериологических посевов копрофильтратов, трахеобронхиального аспирата, крови, кожи, ротоглотки, носовой полости	655
6.	Биофизические	НСГ, ЭхоКГ, УЗИ внутренних органов	339
7.	Рентгенологические	Рентгенография органов грудной полости	339
Итого лабораторных исследований:			2552

Глава 3 – КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРЕЙ И НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

3.1 – Клинико-анамнестические особенности матерей

Средний возраст женщин основных групп и группы сравнения составил $30,25 \pm 6,2$ лет, $31,48 \pm 5,11$ лет и $31,36 \pm 5,86$ ($p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$). Большая часть матерей всех групп состояли в браке (67,9 %, 86,2 %, 84,8 % случаев в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно, $p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$), были городскими жительницами (85,7 %, 86,2 %, 78,8 % случаев в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно, $p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$), имели постоянное место работы (71,4 %, 82,8 %, 87,9 % случаев в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно, $p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$). Алкогольная и никотиновая зависимость отмечалась у 17,9 %, 10,3 % и 12,1 % матерей 1-й, 2-й и 3-й групп соответственно ($p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$).

Состояние здоровья женщин, родивших недоношенных детей, во всех группах характеризовалось наличием соматических заболеваний, создающих неблагоприятный фон для возникновения осложнений во время беременности, родов и послеродового периода. Наиболее часто в структуре экстрагенитальной патологии у женщин всех групп регистрировались болезни крови и кроветворных органов, представленные анемией легкой и средней степени тяжести (46,5 %, 41,4 % и 48,5 % случаев в 1-й, 2-й и 3-й группах соответственно, $p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$).

По данным акушерско-гинекологический анамнеза у матерей в равной степени регистрировались случаи выкидышей (17,9 %, 10,3 %, 21,2 % в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно, $p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$), привычного невынашивания (3,6 %, 10,3 %, 6,1 % в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно, $p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$), медицинских аборт (32,1 %, 17,2 % и 33,3 % в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно, $p_{1-2, 1-3, 2-3} > 0,05$).

Аntenатальная гибель плода отмечалась в анамнезе у женщин всех групп, во 2-й группе достоверно чаще ($p_{1-2} = 0,025$, $p_{2-3} = 0,014$). У 76,8 %, 75,9 % и 75,8 % женщин 1-й, 2-й и 3-й групп соответственно беременность была повторной.

Наступление беременности с помощью вспомогательных репродуктивных технологий наблюдалось у 3,6 % женщин 1-й и 3-й групп, и у 10,7 % женщин 2-й группы ($p_{1-2,1-3,2-3}>0,05$).

Аntenатальный период недоношенных детей протекал на фоне преэклампсии (42,9 %, 55,1 % и 39,4 % в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно), хронической плацентарной недостаточности (60,8 %, 72,4 % и 63,7 % в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно), нарушения маточно-плацентарного кровотока (60,8 %, 51,7 % и 54,6 % в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно), маловодия (28,6 %, 20,7 % и 36,4 % в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно), истмико-цервикальной недостаточности (25 %, 13,8 % и 12,1 % в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно) ($p>0,05$, во всех случаях).

Длительный безводный промежуток диагностировался у 10,7 % и 24,1 % ($p_{1-2}>0,05$), хроническая внутриматочная инфекция у 25 % и 17,2 % ($p_{1-2}>0,05$), женщин, родоразрешенных в сроке сверхранных и ранних преждевременных родов. Однако, случаи хориоамнионита регистрировались чаще у матерей, родивших в сроке 24-27 недель (17,9 % против 3,4 %, $p_{1-2}>0,05$). Наличие у матерей данных инфекционных патологических состояний явилось фактором риска развития инфекционно-воспалительных заболеваний у новорожденных.

Более чем в 90 % случаев, женщины 1-й и 2-й групп и 100 % матерей группы сравнения были родоразрешены оперативным путем (кесарево сечение) в плановом порядке.

Таким образом, наличие экстрагенитальной патологии, отягощенный акушерско-гинекологический анамнез и осложненное течение настоящей беременности, явились факторами риска рождения недоношенных детей.

3.2 – Клиническая характеристика недоношенных детей

Оценка клинического состояния новорожденных показала, что наиболее низкие показатели по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах жизни наблюдались у новорожденных с меньшим сроком гестации (таблица 2).

Таблица 2 - Оценка по шкале Апгар у недоношенных детей

Минута	Оценка по шкале Апгар, баллы, (M ± SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
1-я минута	4,25±1,20	5,34±0,93	5,69±0,63	p _{1-2, 1-3} <0,0001
5-я минута	6,25±0,79	6,86±0,35	7±0,25	p ₁₋₂ =0,001 p ₁₋₃ <0,0001

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень значимости различий между группами детей.

Асфиксия тяжелой степени была выявлена только у новорожденных 1-й и 2-й групп. У детей 1-й группы на первой минуте асфиксия тяжелой степени (0-3 баллов по шкале Апгар через 1 мин после рождения) регистрировалась в 4 раза чаще – в 25 % случаев по сравнению с показателями детей 2-й группы – 6,9 % случаев (p₁₋₂>0,05). Средняя и умеренная асфиксия при рождении (4-7 баллов через 1 мин после рождения) регистрировалась у 75 %, 93,1 % и 100 % новорожденных 1-й, 2-й и 3-й групп (p₁₋₂>0,05, p₁₋₃=0,002, p₁₋₃>0,05).

До середины 80-х годов XX века основным критерием диагностики тяжести асфиксии являлась оценка по шкале Виржинии Апгар Международной классификации болезней IX пересмотра (1975 г.) рубрики 768, 768,5; 768,6. Однако, катамнестические исследования, проведенные Американской академией педиатрии и Американским колледжем акушеров и гинекологов в 1986 г., продемонстрировали, что оценка по шкале Апгар не всегда достоверно отражает тяжесть перенесенной асфиксии. Наиболее объективным показателем, который позволяет оценить состояние внутриутробного благополучия плода, является кислотно-основное состояние, измеренное в первые часы жизни. Чем тяжелее асфиксия, тем более выраженный смешанный или метаболический ацидоз [38].

Исследование газов крови и кислотно-основного состояния осуществлялось в возрасте 2-х часов жизни. У недоношенных новорожденных было выявлено, что показатели pH и парциального давления кислорода в крови сопоставимы во всех группах. Парциальное напряжение углекислого газа было достоверно выше у детей 2-й группы относительно параметров 1-й группы, однако не отличалось от показателей группы сравнения (p₁₋₂=0,015, p_{1-3, 2-3}>0,05). В 1-й группе детей

отмечался дефицит буферных оснований по сравнению с показателями группы сравнения ($p_{1-3}=0,016$) (таблица 3).

Таблица 3 - Показатели газов крови и кислотно-основного состояния у недоношенных детей в 1-е сутки жизни

Показатели	Показатели газов крови и кислотно-основного состояния, (M±SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
pH	7,33±0,07	7,31±0,06	7,34±0,05	
pCO ₂ , мм.рт.ст.	40,05±9,54	46,98±9,04	42,36±10,27	p ₁₋₂ =0,015
pO ₂ , мм.рт.ст.	53,98±14,31	57,75±13,15	52,73±9,65	
cHCO ₃ ⁻ , ммоль/л	21,01±3,97	23,11±2,89	23,15±2,55	p _{1-2,1-3} =0,017
BE, ммоль/л	-4,08±4,13	-2,48±2,58	-1,83±2,31	p ₁₋₃ =0,016
cK ⁺ , ммоль/л	8,52±3,74	8,31±2,83	7,92±3,53	
cNa ⁺ , ммоль/л	130,67±8,77	131,68±5,92	128,13±17,13	
cCa ⁺ , ммоль/л	1,18±0,09	1,24±0,11	9,12±30,53	

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃ – уровень значимости различий между группами детей.

Таким образом, показатели pH и pO₂ во всех группах были сопоставимы и соответствовали значениям физиологической нормы. Однако в 1-й группе отмечалось снижение уровня стандартного бикарбоната. Во 2-й и 3-й группе показатели КОС были в пределах допустимых значений. Статистически значимых различий в уровне электролитов не выявлено.

Антропометрические показатели недоношенных детей представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Антропометрические параметры недоношенных детей при рождении

Показатели	Антропометрические параметры, (M ±SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
Рост, см	35,10±2,48	38,51±2,26	43,84±2,48	p _{1-2, 1-3, 2-3} <0,0001 во всех случаях
Окружность головы, см	25,60±1,87	28,41±1,35	31,57±1,96	
Окружность груди, см	23,42±2,60	27,62±2,44	30,57±2,42	

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень значимости различий между группами детей.

Наименьший гестационный возраст ($27,14 \pm 1,07$, $30,55 \pm 1,08$ в $34,24 \pm 1,36$ недель в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно, $p_{1-2, 1-3, 2-3} < 0,0001$) и антропометрические показатели имели новорожденные 1-й группы. По половой принадлежности основные группы и группа сравнения были сопоставимы. Доля мальчиков составила 46,1 %, 62,1 %, 51,5 %, девочек 53,6 %, 37,9 %, 48,5 % в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно ($p > 0,05$ во всех случаях). Новорожденные 1-й и 2-й групп после проведения мероприятий первичной и реанимационной помощи из операционно-родового блока транспортировались в ОРИТН для дальнейшего лечения и выхаживания. У большинства детей 1-й и 2-й групп наблюдалось тяжелое состояние в 1-е сутки жизни (89,3 % и 96,6 %). Очень тяжелое состояние имели 10,7 % и 3,4 % новорожденных. В 3-й группе тяжелое состояние отмечалось значительно реже, чем у детей с меньшим сроком гестации – 48,5 % случаев ($p_{1-3} = 0,001$; $p_{2-3} < 0,0001$), у 51,5 % новорожденных регистрировалось состояние средней тяжести. Тяжесть состояния детей 1-й и 2-й групп была обусловлена течением респираторного дистресс-синдрома новорожденного. РДС регистрировался с частотой 100 % и 86,2 % случаев в 1-й и 2-й группах соответственно, в связи с чем, большинство новорожденных нуждались в респираторной терапии на момент рождения. Проведение искусственной вентиляции легких чаще требовалось новорожденным 1-й группы (таблица 5).

Таблица 5 - Стартовая респираторная поддержка, проводимая недоношенным детям

Вид поддержки	Частота респираторной поддержки						p
	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=29)		3-я группа (n=33)		
	абс	%	абс	%	абс	%	
ИВЛ	16	57,1	4	13,8	0	0	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,027$
CPAP	12	42,9	21	72,4	12	36,4	$p_{1-2} = 0,024$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} = 0,005$

Примечание: p_{1-2} , p_{1-3} , p_{2-3} – уровень значимости различий между группами детей;
ИВЛ – искусственная вентиляция легких, CPAP - Continuous Positive Airway Pressure.

Во 2-й группе, напротив, большинство детей получали неинвазивную респираторную поддержку методом СРАР (Continuous Positive Airway Pressure). У новорожденных 3-й группы только в 36,4 % случаев диагностировался синдром дыхательных расстройств, и потребовалось проведение СРАР. Профилактическое введение препаратов сурфактанта чаще применялось у детей 1-й группы 92,9 %, чем у детей 2-й группы ($p_{1-2} < 0,0001$). «Малоинвазивным» методом – LISA (less invasive surfactant administration) сурфактант вводился в 21,4 % и 13,8 % случаев в 1-й и 2-й группах соответственно ($p_{1-2} > 0,05$). Дети группы сравнения не нуждались в сурфактантной терапии.

Энтеральное зондовое питание все недоношенные дети начали получать с первых суток жизни.

При анализе уровня общего белка и глюкозы различий в основных группах и группе сравнения не обнаружено (таблица 6).

Таблица 6 - Уровень общего белка и глюкозы крови у недоношенных детей на 1-е сутки жизни

Показатели	Уровень общего белка и глюкозы, (M ±SD)		
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)
Общий белок, г/л	40,17±8,85	43,11±5,32	47,20±6,05
Глюкоза, ммоль/л	2,44±1,41	2,98±1,64	2,91±1,21

Примечание: $p > 0,05$ во всех случаях.

Исследование гематологических показателей в первые сутки жизни продемонстрировали, что уровень гемоглобина был сопоставим в 1-й и 2-й группах. Значения в группе сравнения были достоверно выше, чем в 1-й группе ($p_{1-3} < 0,0001$). Регистрировалось снижение уровня эритроцитов в 1-й и 2-й группах по сравнению с 3-й группой ($p_{1-3} < 0,0001$, $p_{2-3} = 0,001$). Значения среднего объема эритроцита (MCV) и содержания гемоглобина в эритроците (MCH) напротив, было выше в основных группах ($p_{1-3} < 0,0001$, $p_{2-3} = 0,008$ и $p_{1-3} = 0,002$, $p_{2-3} = 0,014$). Низкие показатели гематокрита регистрировались только у детей с меньшим

сроком гестации по сравнению со значениями 3-й группы ($p_{1-3}<0,0001$).
 Наименьшее абсолютное количество тромбоцитов выявлено у детей 1-й группы
 Сниженное количество лейкоцитов отмечалось у новорожденных основных групп
 по сравнению с 3-й группой ($p_{1-2,1-3}<0,0001$) (таблица 7).

Таблица 7 - Показатели общего клинического анализа крови и С-реактивного белка у недоношенных детей на 1-е сутки жизни

Показатели	Показатели общего анализа крови, (M ±SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
Нб, г/л	159,39±17,21	166,72±24,44	177,27±17,34	$p_{1-3}<0,0001$
Эритроциты, $10^{12}/л$	4,56±2,38	4,39±0,59	4,96±0,80	$p_{1-3}<0,0001$ $p_{2-3}=0,001$
Нт, %	48,22±5,62	51,03±7,93	53,52±8,48	$p_{1-3}<0,0001$
Тромбоциты, $10^9/л$	152,71±57,01	196,0±64,61	242,69±74,78	$p_{1-2}=0,015$ $p_{1-3}<0,0001$ $p_{2-3}=0,017$
Лейкоциты, $10^9/л$	10,45±7,03	9,94±4,03	13,84±4,50	$p_{1-3}<0,0001$ $p_{2-3}<0,0001$
Эозинофилы, %	1,67±1,96	2,34±2,36	2,48±2,06	
Эозинофилы, $10^9/л$	0,15±0,18	0,2±0,26	0,57±0,32	$p_{1-3}=0,017$
Нейтрофилы палочкоядерные, %	4,05±3,85	5,89±6,07	4,60±3,18	
Нейтрофилы палочкоядерные, $10^9/л$	0,57±0,94	0,67±0,87	0,93±0,5	
Нейтрофилы сегментоядерные, %	35,28±17,28	34,44±14,27	42,63±11,21	$p_{1-3}=0,012$
Нейтрофилы сегментоядерные, $10^9/л$	4,53±5,24	3,5±2,14	7,26±2,98	$p_{2-3}=0,0002$
Лимфоциты, %	51,78±20,08	42,17±15,6	39,72±15,23	$p_{1-3}=0,013$
Лимфоциты, $10^9/л$	5,96±8,45	4,65±1,86	4,08±2,49	
Моноциты, %	6,29±3,71	8,06±3,8	7,93±3,19	
Моноциты, $10^9/л$	0,76±0,65	0,84±0,78	1,16±0,57	
MCV, fL	118,01±3,71	115,8±5,44	109,38±18,4	$p_{1-3}<0,0001$ $p_{2-3}=0,008$
MCH, pg	38,86±2,36	37,88±1,57	37,09±2,73	$p_{1-3}=0,002$ $p_{2-3}=0,014$
MCHC, g/L	316,78±55,02	327,37±7,84	326,45±8,46	
С-реактивный белок, г/л	20,10±21,55	15,77±18,72	4,16±4,15	$p_{1-3}<0,0001$

Примечание: p_{1-2} , p_{1-3} , p_{2-3} – уровень значимости различий между группами детей; Нб – гемоглобин, Нт – гематокрит, MCV – средний объем эритроцита, MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците, MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците

В 1-е сутки жизни было зарегистрировано достоверно значимое повышение уровня С-реактивного белка (СРБ) у детей 1-й группы по сравнению с

показателями новорожденных группы сравнения ($p_{1-3} < 0,0001$) (результаты представлены в таблице 7).

При рождении глубоко недоношенные новорожденные 1-й группы имели меньшие антропометрические данные, что связано с меньшим гестационным возрастом. Асфиксия тяжелой степени диагностировалась у 25 % новорожденных 1-й группы. Тяжесть состояния детей основных групп при рождении была обусловлена синдромом дыхательных расстройств, в связи с чем, в большинстве случаев требовалось проведение респираторной поддержки. Анализ гематологических показателей у недоношенных основных групп продемонстрировал статистически значимые различия в показателях морфологической характеристики эритроцитов по сравнению с 3-й группой. Увеличение уровня СРБ зарегистрировано у детей с наименьшим сроком гестации.

В течение раннего неонатального периода 71,4 % детей, рожденных в сроке гестации 24-27 недель, находились в ОРИТН. У большинства детей данной группы сохранялись дыхательные нарушения, и требовалось проведение респираторной поддержки, ввиду большей незрелости легочной ткани по сравнению с детьми большего срока гестации (таблица 8).

Таблица 8 - Респираторная поддержка, проводимая недоношенным детям на 7-10-е сутки жизни

Вид поддержки	Частота проводимой респираторной поддержки						p
	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=29)		3-я группа (n=33)		
	абс	%	абс	%	абс	%	
ИВЛ	15	53,6	1	3,4	0	0	$p_{1-2, 1-3} < 0,001$
СРАР	1	3,6	1	3,4	0	0	
ВПК	3	10,7	0	0	0	0	

Примечание: p_{1-2} , p_{1-3} – уровень значимости различий между группами детей; ИВЛ – искусственная вентиляция легких, СРАР - Continuous Positive Airway Pressure, ВПК – высокопоточные назальные канюли.

Дети, родившиеся в сроке 28-31 неделя гестации, в 93,1 % случаев были переведены в отделение патологии новорожденных и недоношенных детей в возрасте 2-4 суток жизни. Дети из группы сравнения, все без исключения, пребывали в ОПННД.

По достижению 7-10 суток жизни у недоношенных детей сформировалось гипоксически-ишемическое поражение ЦНС различной степени тяжести. Церебральная ишемия III степени регистрировалась чаще у детей 1-й группы – в 67,9 % случаев ($p_{1-2}=0,001$, $p_{1-3}<0,0001$), во 2-й группе частота превышала показатели группы сравнения ($p_{2-3}=0,044$). Церебральная ишемия II степени выявлялась с большей частотой у новорожденных 2-й группы, по сравнению с показателями детей меньшего срока гестации (69 % против 32,1 %, $p_{1-2}=0,005$). У детей группы сравнения в равной степени диагностировалось гипоксически-ишемическое поражение ЦНС легкой и средней степени тяжести (42,4 % и 48,5 % случаев), тяжелое поражение наблюдалось в единичных случаях – у 6,1 % новорожденных этой группы ($p_{1-3}<0,0001$). Внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) различной степени тяжести диагностировались у новорожденных основных групп и группы сравнения. ВЖК I степени регистрировались во всех группах. ВЖК II и III степени отмечались только у детей с наименьшим сроком гестации (24-27 недель). Развитие ВЖК у недоношенных обусловлено примитивным эмбриональным строением сосудов перивентрикулярных областей головного мозга, обладающих низкой механической прочностью [6] (таблица 9).

Оценка тяжести поражения ЦНС проводилась врачом-неврологом в соответствии с «Классификацией перинатальных поражений нервной системы у новорожденных», утвержденной в 2005 году Российской Ассоциацией Перинатальной Медицины [7].

Таблица 9 - Перинатальные поражения центральной нервной системы у недоношенных детей на 7-10-е сутки жизни

Патология	Частота перинатальных поражений центральной нервной системы						p
	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=29)		3-я группа (n=33)		
	абс	%	абс	%	абс	%	
Церебральная ишемия (P91.0), в том числе:	28	100	29	100	32	97	
церебральная ишемия I степени	0	0	2	6,9	14	42,4	$p_{1-3, 2-3} < 0,001$
церебральная ишемия II степени	9	32,1	20	69,0	16	48,5	$p_{1-2} = 0,005$
церебральная ишемия III степени	19	67,9	7	24,1	2	6,1	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} < 0,0001$ $p_{2-3} = 0,044$
Внутричерепные кровоизлияния гипоксического генеза (P52), в том числе:	14	49,9	5	17,2	7	21,2	$p_{1-2} = 0,005$ $p_{1-3} = 0,008$
внутрижелудочковое кровоизлияние I степени (P52.1)	6	21,4	5	17,2	7	21,2	
внутрижелудочковое кровоизлияние II степени (P52.2)	6	21,4	0	0	0	0	
внутрижелудочковое кровоизлияние III степени (P52.3)	2	7,1	0	0	0	0	

Примечание: p_{1-2} , p_{1-3} , p_{2-3} – уровень значимости различий между группами детей.

Инфекционные заболевания чаще наблюдались в 1-й группе. Инфекция, в перинатальном периоде (P39.9) у этих новорожденных регистрировалась значительно чаще, чем у детей с большим сроком гестации (p_{1-2} , $p_{1-3} < 0,0001$). Статистически значимых различий в частоте выявления раннего сепсиса не обнаружено (таблица 10).

Таблица 10 - Инфекционные заболевания у недоношенных детей на 7-10-е сутки жизни

Патология	Частота инфекционной патологии						p
	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=29)		3-я группа (n=33)		
	абс	%	абс	%	абс	%	
Бактериальный сепсис новорожденного, ранний (P36)	3	10,7	1	3,4	0	0	
Инфекция перинатального периода, неуточненная (P39.9)	26	92,9	13	44,8	3	9,1	$p_{1-2, 1-3} < 0,0001$ $p_{2-3} = 0,001$

Примечание: p_{1-2} , p_{1-3} , p_{2-3} – уровень значимости различий между группами детей.

К завершению раннего неонатального периода частота анемии выявлялась значительно чаще у детей с наименьшим сроком гестации (46,4 % против 3,4 %, $p_{1-2} < 0,0001$). Трансфузия отмытых эритроцитов потребовалась 39,3 % новорожденных, что связано с развитием геморрагического синдрома (внутрижелудочковыми кровоизлияниями), а также с незрелыми адаптивными механизмами недоношенных детей – сниженной способностью к синтезу эритропоэтина в крови [8]. Для предотвращения анемий следует включать введение препаратов эритропоэтина в соответствии с рекомендациями российской ассоциации специалистов перинатальной медицины.

Гемодинамически значимый функционирующий артериальный проток, диагностировался только у новорожденных, родившихся в сроке 24-27 недель гестации в 10,7 % случаев.

При анализе кислотно-основного состояния недоношенных детей в возрасте 7-10-х суток жизни концентрация значений pH, pCO_2 , HCO_3^- и BE были сопоставимы во всех группах. Концентрация pO_2 была несколько ниже у новорожденных с меньшим сроком гестации ($p_{1-2, 1-3} < 0,0001$) (таблица 11).

Таблица 11 - Показатели газов крови и кислотно-основного состояния у недоношенных детей на 7-10-е сутки жизни

Показатели	Показатели газов крови и кислотно-основного состояния, (M±SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
pH	7,35±0,05	7,37±0,04	7,39±0,04	
pCO ₂ , мм.рт.ст.	46,24±8,02	42,68±5,06	39,28±4,86	
pO ₂ , мм.рт.ст.	44,01±6,03	52,72±5,01	58,17±7,21	p ₁₋₂ <0,0001 p ₁₋₃ <0,0001
cHCO ₃ ⁻ , ммоль/л	25,25±3,82	24,56±2,98	23,97±1,90	
BE, ммоль/л	0,30±3,82	-0,06±3,15	-0,24±1,94	
cK ⁺ , ммоль/л	5,92±1,61	6,71±1,68	7,07±2,02	
cNa ⁺ , ммоль/л	134,70±5,58	133,38±3,82	132,42±3,04	
cCa ⁺⁺ , ммоль/л	1,45±0,13	1,35±0,08	1,27±0,04	p ₁₋₂ =0,005 p ₁₋₃ <0,0001

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, – уровень значимости различий между группами детей.

При анализе гематологических показателей недоношенных детей к завершению раннего неонатального периода выявлено повышение зрелых форм клеток гранулоцитарного ряда и снижение относительного уровня лимфоцитов у обследуемых 1-й группы (p₁₋₂=0,017, p₁₋₃<0,0001 в обоих случаях). В 1-й и 2-й группах отмечено достоверное снижение MCV по сравнению с показателями новорожденных группы сравнения (p_{1-3, 2-3}=0,008) (таблица 12).

Таблица 12 - Показатели общего клинического анализа крови у недоношенных детей на 7-10-е сутки жизни

Показатели	Показатели общего клинического анализа крови, (M±SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
Нб, г/л	148,10±14,8 1	150±23,29	150±15,14	
Эритроциты, 10 ¹² /л	4,25±0,60	4,16±0,62	4,29±0,47	
Нт, %	44,36±4,76	45,93±7,51	46,01±5,41	
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	275±89,6	329,13±132,86	333,59±104,79	p ₁₋₃ =0,026
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	14,40±5,95	12,65±4,50	11,61±3,33	
Эозинофилы, %	3,80±2,31	3,18±2,32	3,5±3,62	
Эозинофилы, 10 ⁹ /л	0,5±0,38	0,37±0,29	0,75±0,65	
Нейтрофилы палочкоядерные, %	4,14±2,74	4,14±3,37	2,9±1,42	
Нейтрофилы палочкоядерные, 10 ⁹ /л	0,63±0,52	0,26±0,27	0,39±0,23	p ₁₋₃ =0,008
Нейтрофилы сегментоядерные, %	44,89±13,03	38,57±11,46	35,87±7,40	p ₁₋₂ =0,017 p ₁₋₃ <0,0001
Нейтрофилы сегментоядерные, 10 ⁹ /л	6,91±4,18	2,17±1,57	4,21±1,78	p ₁₋₃ =0,001
Лимфоциты, %	35,10±11,07	42,92±12,94	46,11±11,58	p ₁₋₂ =0,017 p ₁₋₃ <0,0001
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	4,59±1,54	4,06±1,61	4,73±2,18	
Моноциты, %	10,10±4,07	9,89±4,61	8,58±3,77	
Моноциты, 10 ⁹ /л	1,58±0,83	0,74±0,59	0,85±0,55	p ₁₋₃ =0,0007
MCV, fL	101,48±19,5	107,56±6,77	141,80±184,06	p _{1-3, 2-3} =0,008
MCH, pg	35,12±3,53	35,82±2,26	35,01±1,70	
MCHC, g/L	334±15,66	328,06±10,71	326,78±8,55	

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень значимости различий между группами детей;

Нб – гемоглобин, Нт – гематокрит, MCV – средний объем эритроцита, MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците, MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците.

При анализе биохимических показателей на 7-10-е сутки обращает на себя внимание низкая концентрация мочевины у детей основных групп, что обусловлено морфо-функциональной незрелостью структур ткани почки (таблица 13).

Таблица 13 - Показатели биохимического исследования крови у недоношенных детей на 7-10-е сутки жизни

Показатели	Показатели биохимического исследования крови, (M±SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
Общий белок, г/л	40,17±8,85	43,11±5,32	47,20±6,05	
Альбумин, г/л	24,68±13,63	29,85±6,17	20,67±18,38	
Сахар, ммоль/л	4,03±2,39	3,87±0,73	3,79±1,44	
Креатинин, мкмоль/л	57,38±37,94	50,56±19,40	54,21±26,63	
Мочевина, ммоль/л	5,73±3,93	5,16±2,56	17,21±59,80	p ₁₋₃ =0,002 p ₂₋₃ =0,005
АСТ, Ед/л	31,14±31,39	34,80±16,42	37,94±15,78	
АЛТ, Ед/л	12,72±10,03	14,67±12,60	13,97±5,45	
Билирубин общий, мкмоль/л	71,82±59,38	139,18±42,60	157,63±48,84	p ₁₋₂ <0,0001 p ₁₋₃ <0,0001
Билирубин прямой, мкмоль/л	6,67±4,46	8,78±1,91	21,6±41,94	p ₁₋₃ =0,003 p ₂₋₃ =0,015
Билирубин не прямой, мкмоль/л	63,89±57,74	130,41±42,16	144,60±59,11	p ₁₋₂ <0,0001 p ₁₋₃ <0,0001

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень значимости различий между группами детей; АСТ – аспаргатаминотрансфераза, АЛТ – аланинаминотрансфераза.

В характере вскармливания детей достоверных различий не выявлено. Большая часть детей основных групп и группы сравнения находилась на грудном вскармливании (таблица 14).

Таблица 14 - Вскармливание недоношенных детей на 7-10-е сутки жизни

Вид вскармливания	Частота различных видов вскармливания					
	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=29)		3-я группа (n=33)	
	абс	%	абс	%	абс	%
Грудное	19	67,9	24	82,8	24	72,7
Искусственное	9	32,1	4	13,8	4	12,1
Смешанное	0	0	1	3,4	5	15,2

Примечание: p>0,05 во всех случаях.

К завершению раннего неонатального периода 71,4 % детей, родившихся в сроке гестации 24-27 недель, находились в ОРИТН и 53,6 % нуждались в проведении ИВЛ. Новорожденные 2-й группы (93,1 %) и дети группы сравнения (100 %) выхаживались в условиях ОПННД. У новорожденных 1-й группы достоверно чаще диагностировалась церебральная ишемия III степени, среди пациентов 2-й и 3-й группы диагностировались легкие и средне-тяжелые формы гипоксического поражения ЦНС. Более высокая частота инфекционной патологии и анемии наблюдалась среди новорожденных с гестационным возрастом 24-27 недель.

К моменту выписки детей из стационара в ПКВ 37-40 недель статистически значимых различий в массе тела не выявлено ($2294,14 \pm 342,56$ г, $2096,48 \pm 95,32$, $2268,39 \pm 243,17$ в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно, $p > 0,05$ во всех случаях).

Учитывая большую незрелость детей со сроком гестации 24-27 недель, их пребывание в условиях ОРИТН и общая длительность нахождения в стационаре была достоверно выше, чем у детей 2-й группы и 3-й групп ($p_{1-2, 1-3} > 0,0001$) (таблица 15).

Таблица 15 - Общая длительность госпитализации и продолжительность пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных

Показатели	Длительность общей госпитализации и пребывания в ОРИТН, (M \pm SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
Длительность пребывания в стационаре, сутки	64,52 \pm 22,78	39,53 \pm 8,52	18,66 \pm 7,41	$p_{1-2, 1-3, 2-3} < 0,0001$
Длительность пребывания в ОРИТН, сутки	18,64 \pm 12,0	4,62 \pm 3,55	2,36 \pm 1,79	$p_{1-2, 1-3} < 0,0001$ $p_{2-3} = 0,001$

Примечание: p_{1-2} , p_{1-3} , p_{2-3} – уровень значимости различий между группами детей; ОРИТН – отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных.

Длительнее была и респираторная поддержка у детей 1-й группы (таблица 16).

Таблица 16 - Продолжительность респираторной поддержки, проводимой недоношенным детям за время пребывания в стационаре

Вид поддержки	Продолжительность респираторной поддержки, (M ±SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
ИВЛ, сутки	9,82±10,05	0,86±2,18	0,15±0,56	p _{1-2, 1-3} <0,0001
CPAP, сутки	5,05±5,67	1,74±1,47	0,48±1,20	p _{1-2, 1-3, 2-3} <0,0001

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень значимости различий между группами детей; ИВЛ – искусственная вентиляция легких, CPAP - Continuous Positive Airway Pressure.

Наибольшая продолжительность парентерального питания отмечалась у детей 1-й группы (p_{1-2, 1-3, 2-3}<0,0001) (таблица 17).

Таблица 17 - Длительность парентерального и зондового питания у недоношенных детей

Показатели	Длительность парентерального и зондового питания, (M ±SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
Длительность парентерального питания, сутки	41,0±21,5	17,44±9,87	1,75±3,26	p _{1-2, 1-3, 2-3} <0,0001
Длительность зондового питания, сутки	48,15±15,72	28,33±8,18	15,06±7,13	p _{1-2, 1-3, 2-3} <0,0001

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень значимости различий между группами детей.

К моменту достижения ПКВ 37-40 недель у всех детей основных групп регистрировалась сочетанная патология. Следствием тяжелых и средне-тяжелых форм церебральной ишемии у детей 1-й и 2-й групп явилось формирование перивентрикулярных лейкомаляций. Чаше ПВЛ регистрировалась у детей от сверхранних преждевременных родов (75 % в 1-й группе против 41,4 % во 2-й группе, p₁₋₂=0,01).

В ПКВ 37-40 недель каждому второму ребенку 1-й группы по совокупности клинических данных и результатов рентгенологического обследования диагностировано наличие БЛД, что объясняется исходной незрелостью легких и

более длительной респираторной терапией. Более чем у половины детей этой группы сформировалась классическая форма, что обусловлено высокой частотой проведения ИВЛ. По степени тяжести преобладали тяжелая и легкая БЛД. У детей, родившихся в сроке гестации 28-31 неделя, сформировалась только в двух случаях легкая степень БЛД ($p_{1-2} < 0,0001$) (таблица 18).

Таблица 18 - Бронхолегочная дисплазия и ретинопатия у недоношенных детей 1-й и 2-й группы в постконцептуальном возрасте 37-40 недель

Патология (код по МКБ 10)	Частота БЛД и ретинопатии у недоношенных детей				p
	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=29)		
	абс	%	абс	%	
Бронхолегочная дисплазия классическая форма (P27.1), том числе:	15	53,6	2	6,9	$p_{1-2} < 0,0001$
легкой степени	5	17,9	2	6,9	$p_{1-3} = 0,002$
средней степени	4	14,3	0	0	$p_{1-2} = 0,011$
тяжелой степени	6	21,4	0	0	$p_{1-2} = 0,008$
Бронхолегочная дисплазия (P27.1) новая форма, в том числе:	3	10,8	0	0	
легкой степени	1	3,6	0	0	
средней степени	1	3,6	0	0	
тяжелой степени	1	3,6	0	0	
Ретинопатия недоношенных (H35), в том числе:	28	100	20	69	$p_{1-2} = 0,001$
I стадия	1	3,6	8	27,6	$p_{1-2} = 0,013$
II стадия	21	75	12	41,4	$p_{1-2} < 0,0001$
III стадия	6	21,4	0	0	$p_{1-2} = 0,008$

Примечание: $p_{1-2}, 1-3$ – уровень значимости различий между группами детей;
БЛД – бронхолегочная дисплазия.

Установлены различия в частоте встречаемости ретинопатии недоношенных, тяжесть которой обратно пропорциональна сроку гестации ребенка. Ретинопатия III стадии диагностирована у каждого пятого ребенка 1-й группы. Встречаемость ретинопатии II стадии в 1-й и 2-й группах не имела

значимых различий. Ретинопатия I стадии чаще регистрировалась у детей с большим сроком гестации ($p_{1-2}=0,013$) (таблица 18).

У детей, родившихся в сроке гестации 32-36 недель, случаев БЛД и ретинопатии не выявлено.

Частота госпитальной пневмонии у детей 1-й группы превышала показатели 2-й группы ($p_{1-2}<0,0001$). Некротизирующий энтероколит не выявлен ни у одного ребенка. К ПКВ 37-40 недель зарегистрированы случаи цитомегаловирусной инфекции в группе с наименьшим сроком гестации (таблица 19).

Таблица 19 - Инфекционные заболевания недоношенных детей в постконцептуальном возрасте 37-40 недель

Патология (код по МКБ 10)	Частота инфекционной патологии недоношенных детей						p
	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=29)		3-я группа (n=33)		
	абс	%	абс	%	абс	%	
Бактериальный сепсис новорожденного, поздний (P36)	3	10,7	1	3,4	0	0	
Пневмония (J18)	14	50	2	6,9	2	6,1	$p_{1-2, 1-3}, <0,0001$
Цитомегаловирусная инфекция (B25)	3	10,7	0	0	0	0	

Примечание: p_{1-2}, p_{1-3} – уровень значимости различий между группами детей.

У всех детей основных групп наблюдалась анемия недоношенных, чаще в первой группе (100 % против 65,5 % и 15,2 %, $p_{1-2}=0,001$, $p_{1-3}, p_{2-3}<0,0001$). Количество проведенных трансфузий отмытых эритроцитов у детей с наименьшим сроком гестации в 4,8 раза (82,1 % против 17,2 %, $p_{1-2}<0,0001$) превышало показатели 2-й группы.

Паховые и пупочные грыжи отмечались у детей основных групп, и в большей степени у детей с наименьшим сроком гестации (28,5 % и 10,3 %).

Показатели газов крови и кислотно-основного состояния соответствовали референсным значениям у всех недоношенных детей в ПКВ 37-40 недель (таблица 20).

Таблица 20 - Показатели газов крови и кислотно-основного состояния у недоношенных детей в постконцептуальном возрасте 37 - 40 недель

Показатели	Показатели газов крови и кислотно-основного состояния, (M±SD)		
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)
pH	7,37±0,03	7,37±0,02	7,39±0,04
pCO ₂ , мм.рт.ст.	45,93±3,90	44,5±3,52	39,28±4,86
pO ₂ , мм.рт.ст.	46,55±7,17	43,40±2,48	58,17±7,21
cHCO ₃ ⁻ , ммоль/л	26,43±1,91	25,71±1,84	23,97±1,90
BE, ммоль/л	1,66±1,97	1,01±1,78	-0,24±1,94
cK ⁺ , ммоль/л	5,41±0,73	5,10±0,99	7,07±2,02
cNa ⁺ , ммоль/л	135,12±4,16	136,33±3,32	132,42±3,04
cCa ⁺⁺ , ммоль/л	1,35±0,07	1,35±0,04	1,27±0,04

Примечание: p>0,05 во всех случаях.

При анализе гематологических показателей заслуживает внимание достоверное снижение уровня гемоглобина в динамике периода выхаживания у всех недоношенных детей. Значения среднего объема эритроцита (MCV), содержания гемоглобина в эритроците (MCH), средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC) были достоверно ниже в 1-й и 2-й группах по сравнению с детьми, имеющими гестационный возраст 32-36 недель (таблица 21).

Таблица 21 - Показатели общего клинического анализа крови у недоношенных детей в постконцептуальном возрасте 37-40 недель

Показатели	Показатели общего клинического анализа крови у недоношенных детей, (M±SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
Нб, г/л	114,69±28,02	112,28±17,35	120,53±16,26	
Эритроциты, 10 ¹² /л	3,93±0,92	3,67±0,56	3,78±0,93	
Нт, %	36,5±8,14	34,43±7,75	36,34±5,03	
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	286,38±92,13	317,32±95,37	336,33±51,14	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	8,04±2,48	10,10±11,08	10,07±2,44	p ₁₋₃ =0,001
Эозинофилы, %	5,36±3,54	4,25±2,68	6,23±2,77	
Эозинофилы, 10 ⁹ /л	0,37±0,29	0,41±0,49	0,75±0,65	
Нейтрофилы палочкояд., %	3,03±1,92	1,60±0,91	2,15±1,21	p ₁₋₂ =0,001
Нейтрофилы палочкояд., 10 ⁹ /л	0,26±0,27	0,16±0,23	0,39±0,23	
Нейтрофилы сегментояд., %	26,53±9,64	25,17±6,18	27,30±8,48	
Нейтрофилы сегментояд., 10 ⁹ /л	2,17±9,64	2,38±2,44	4,21±1,78	
Лимфоциты, %	53,92±15,70	60,53±6,10	90,35±160,41	p ₁₋₃ =0,017
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	4,06±1,61	6,02±7,36	4,73±2,18	
Моноциты, %	9,34±5,49	8,35±3,59	9,84±3,71	
Моноциты, 10 ⁹ /л	0,74±0,59	0,77±0,7	0,85±0,55	
MCV, fL	92,91±6,66	96,93±6,56	102,62±4,11	p ₁₋₂ =0,007 p ₁₋₃ <0,0001 p ₂₋₃ =0,006
MCH, pg	29,17±2,67	30,86±2,83	34,18±1,60	p ₁₋₂ =0,003 p _{1-3, 2-3} <0,0001
MCHC, g/L	314,53±10,78	315,85±8,77	333,14±8,20	p _{1-3, 2-3} <0,0001

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень значимости различий между группами детей;
Нб – гемоглобин, Нт – гематокрит, MCV – средний объем эритроцита, MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците, MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците.

При анализе биохимического исследования крови по достижению постконцептуального возраста 37-40 недель, выявлен более высокий уровень билирубина у детей группы сравнения, однако, данный показатель во всех группах находился в пределах допустимых значений (таблица 22).

Таблица 22 - Показатели биохимического исследования крови у недоношенных детей в постконцептуальном возрасте 37-40 недель

Показатели	Уровень биохимических показателей крови, (M ±SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
Общий белок, г/л	43,54±11,16	45,19±5,47	49,53±7,37	
Сахар, ммоль/л	4,71±1,01	4,35±0,65	3,8±1,27	
Креатинин, мкмоль/л	38,52±16,37	39,01±8,05	40,56±24,65	
Мочевина, ммоль/л	2,33±1,63	1,66±1,09	5,35±5,09	
АСТ, Ед/л	30,21±18,31	27,22±9,99	57,31±99,09	
АЛТ, Ед/л	16±11,48	12,21±5,60	9,95±6,85	
Билирубин общий, мкмоль/л	41,47±39,79	90,32±30,48	150,82±19,41	p _{1-2, 1-3, 2-3} <0,0001
Билирубин прямой, мкмоль/л	6,9±4,39	7,04±1,16	16,91±27,10	
Билирубин не прямой, мкмоль/л	34,57±37,50	83,28±30,19	136,82±27,62	p _{1-2, 1-3} <0,0001 p ₂₋₃ =0,006

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень значимости различий между группами детей; АСТ – аспаратаминотрансфераза, АЛТ – аланинаминотрансфераза.

Характер вскармливания к ПКВ 37-40 недель изменился. В целом, частота грудного вскармливания сократилась в 2,4, 1,4, 1,1 раза в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно. Частота грудного вскармливания в 1-й группе была ниже по сравнению с показателями детей 2-й группы и группы сравнения (таблица 23).

Таблица 23 - Вскармливание недоношенных детей в постконцептуальном возрасте 37-40 недель

Вид вскармливания	Характер вскармливания недоношенных детей						p
	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=29)		3-я группа (n=33)		
	абс	%	абс	%	абс	%	
Грудное	8	28,6	17	58,6	21	63,6	p ₁₋₂ =0,022 p ₁₋₃ =0,006
Искусственное	13	46,4	3	10,3	4	12,1	p ₁₋₂ =0,002 p ₁₋₃ =0,003
Смешанное	8	28,6	9	31,0	8	24,2	

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃ – уровень значимости различий между группами детей.

В течение всего периода выхаживания недоношенные дети получали антибактериальную терапию. Продолжительность антибиотикотерапии была наибольшей в 1-й группе (таблица 24).

Таблица 24 - Длительность антибактериальной терапии у недоношенных детей

Группа препаратов	Длительность антибактериальной терапии, сутки (M ±SD)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
Защищенные пенициллины	10,57±4,45	11,71±4,07	6,18±4,55	p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ <0,0001
Аминогликозиды	9,92±2,49	6,46±4,43	4,27±4,25	p ₁₋₂ =0,002 p ₁₋₃ <0,0001
Гликопептиды	16,35±9,6	5,67±7,18	1,03±3,07	p ₁₋₂ , 1-3<0,0001 p ₂₋₃ =0,002
Карбапенемы	12,60±11,14	1,85±4,82	0	p ₁₋₂ , 1-3<0,0001
Общая длительность антибактериальной терапии	35±16,08	20±7,84	9,06±8,29	p _{1-2,1-3,2-3} <0,0001

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень значимости различий между группами детей.

К достижению постконцептуального возраста 37-40 недель у детей, родившихся в сроке 24-27 недель гестации, наблюдалась сочетанная патология. Регистрировался высокий уровень бронхолегочной дисплазии тяжелой степени с преобладанием классической формы, ретинопатии недоношенных, инфекционно-воспалительной патологии (пневмонии) и анемии. Отмечалась наибольшая продолжительность антибактериальной терапии, респираторной поддержки и длительность пребывания в условиях стационара.

ГЛАВА 4 – ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОБНОЙ КОЛОНИЗАЦИИ И ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

4.1 – Микробная колонизация и особенности гуморального иммунного ответа недоношенных детей по достижению постконцептуального возраста 37-40 недель

В настоящем исследовании был изучен микробный состав толстого кишечника у недоношенных детей основных групп и группы сравнения в конце первых суток жизни, на 7-10-е сутки жизни и в ПКВ 37-40 недель. Исследование микробиоценоза кишечника проводилось в соответствии с приказом ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ «О порядке микробиологического мониторинга» (от 20.06.2016 г. приказ №263). Микробиологический мониторинг проводится с целью обеспечения инфекционной безопасности, своевременного динамического наблюдения за формированием госпитальной флоры.

Проанализирована частота выявления микроорганизмов по группам: грамотрицательные неферментирующие бактерии (НГОб), энтеробактерии, коагулазонегативные стафилококки, энтерококки, золотистый стафилококк, а также случаи регистрации ассоциаций микроорганизмов. Изучена частота наблюдения эпидемиологически значимых бактерий, являющихся возбудителями внутрибольничных инфекций в неонатальных отделениях (*Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas mirabilis*, *Staphylococcus aureus*) [25].

При проведении бактериологического исследования биоматериала толстой кишки в конце первых суток жизни было установлено, что практически у всех новорожденных отсутствовала кишечная микрофлора. В группе детей с наименьшим сроком гестации рост микроорганизмов зарегистрирован у двух детей (*Staphylococcus epidermidis* и *E. coli*).

По достижению раннего неонатального периода (7-10 сутки жизни) чаще всего отсутствие роста кишечной микрофлоры отмечалось у детей от сверхранних

преждевременных родов (78,6 % случаев против 41,5 % и 24,2 % случаев). Из выделенных микроорганизмов в 1-й и 3-й группах наиболее часто встречались энтеробактерии, во 2-й группе кокки (таблица 25).

Таблица 25 - Микробная колонизация толстого кишечника у недоношенных детей на 7-10 сутки жизни

Микроорганизмы	Частота выделения микроорганизмов						p
	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=29)		3-я группа (n=33)		
	абс	%	абс	%	абс	%	
Не выявлены	22	78,6	10	41,5	8	24,2	p ₁₋₂ =0,001 p ₁₋₃ <0,0001
Грамотрицательные неферментирующие бактерии	2	7,1	2	6,9	2	6,1	
Энтеробактерии	3	10,7	4	13,8	12	36,4	p ₁₋₃ =0,02 p ₂₋₃ =0,043
Коагулазонегативные стафилококки и энтерококки	1	3,6	7	34,4	7	21,2	p ₁₋₂ =0,025
Микробные ассоциации	0	0	1	3,4	4	12,1	

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень значимости различий между группами детей.

Из выделенных микроорганизмов в 1-й группе наиболее часто выявлялись *K. pneumoniae* и *K. oxytoca* (более 10⁴ КОЕ/г), во 2-й группе коагулазонегативные стафилококки и энтерококки в допустимом количестве (до 10⁴ КОЕ/г), в группе сравнения *E. coli* (10⁷-10⁸ КОЕ/г).

В постконцептуальном возрасте 37-40 недель у 78,6 % детей, родившихся с наименьшим сроком гестации, наблюдалась кишечная микробиота. Во 2-й группе у всех детей отмечался рост кишечной микрофлоры. В 3-й группе наличие микроорганизмов зарегистрировано в 84,9 % случаев. Во всех группах наиболее часто регистрировался рост энтеробактерий, в 1-й и 2-й значительно чаще (таблица 26).

Таблица 26 - Микробная колонизация толстого кишечника у недоношенных детей в постконцептуальном возрасте 37-40 недель

Микроорганизмы	Частота выделения микроорганизмов						P
	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=29)		3-я группа (n=33)		
	абс	%	абс	%	абс	%	
Не выявлены	6	21,4	0	0	5	15,1	
Грамотрицательные неферментирующие бактерии	2	7,1	0	0	0	0	
Энтеробактерии	14	57,2	18	62,1	12	36,4	$p_{1-3}=0,048$ $p_{2-3}=0,043$
Коагулазонегативные стафилококки и энтерококки	3	10,7	10	34,4	13	39,4	
Микробные ассоциации	1	3,6	1	3,4	3	9,1	

Примечание: p_{1-2} , p_{1-3} , p_{2-3} – уровень значимости различий между группами детей.

В 1-й группе чаще выявлялся *E. cloacae*, во 2-й группе преобладали *K. oxytoca* и *E. coli* в равной степени, в 3-й группе - *E. coli*. Все микроорганизмы регистрировались в диагностически значимом титре. При исследовании кишечной микрофлоры на содержание в ней *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* значимых различий между исследуемыми группами не выявлено. Рост *Lactobacillus* и *Bifidobacterium spp.* отмечался в единичных случаях (таблица 27).

Таблица 27 - Частота выявления *Lactobacillus* и *Bifidobacterium spp.* у недоношенных детей в постконцептуальном возрасте 37-40 недель

Микроорганизмы	Частота выявления <i>Lactobacillus</i> и <i>Bifidobacterium spp.</i>					
	1-я группа (n=28)		2-я группа (n=29)		3-я группа (n=33)	
	абс	%	абс	%	абс	%
<i>Lactobacillus spp.</i>	6	21,4	4	13,8	2	6,1
<i>Bifidobacterium spp.</i>	1	3,6	1	3,4	1	3,6

Примечание: $p > 0,05$ во всех случаях.

Результаты, которые были получены нами при анализе микробиоценоза толстого кишечника, показывают, что микробная колонизация недоношенных детей характеризуется преобладанием роста грамотрицательных энтеробактерий на фоне выраженного дефицита *Lactobacillus* и *Bifidobacterium spp.* Данный факт обусловлен проведением антибактериальной терапии, а также снижением частоты грудного вскармливания недоношенных детей к постконцептуальному возрасту 37-40 недель. С учетом полученных результатов назревает необходимость пересмотра принятого ранее протокола антибактериальной терапии в учреждении и организации банка донорского грудного молока.

В связи с тем, что по достижению ПКВ 37-40 недель у недоношенных детей отмечалась нарастающая колонизация кишечника условно-патогенными микроорганизмами, была проведена оценка гуморального иммунитета на локальном уровне в 1-е сутки, в раннем неонатальном периоде и ПКВ 37-40 недель.

При исследовании уровня TNF- α , IL-4 в копрофильтратах в динамике периода исследования, различий между группами не обнаружено, однако наблюдалась сниженная концентрации sIgA у детей со сроком гестации 24-27 недель в раннем неонатальном периоде и в ПКВ 37-40 недель, что по-видимому обусловило большую частоту инфекционной патологии в данной группе (таблица 28).

Таблица 28 - Уровень sIgA, TNF- α , IL-4 в копрофильтратах у недоношенных детей в динамике постнатального периода

Показатель, пг/мл	Уровень sIgA, TNF- α , IL-4 в копрофильтратах, Ме (25-75)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
	1-е сутки			
sIgA	0,89(0,67-2,24)	0,92(0,41-3,48)	0,63(0,22-2,81)	
TNF- α	2,58 (2,3-2,96)	2,25(2,12-2,48)	2,32(2,15-2,56)	
IL-4	9,7(9,5-9,9)	8,19(7,96-9,14)	8,39(7,73-12,2)	
	7-10-е сутки			
sIgA	4,53(0,8-9,78)	11,45(3,98-19,58)	10,5(6,9-20,0)	p ₁₋₂ =0,014 p ₁₋₃ =0,012
TNF- α	2,52(2,29-2,54)	2,02(1,95-2,65)	2,02(1,94-2,54)	
IL-4	9,18(8,58-9,87)	9,05(8,66-9,44)	8,52(8,33-8,95)	
	Постконцептуальный возраст 37-40 недель			
sIgA	1,74(0,92-9,3)	11,59(4,08-19,52)	11,22(11,6-16,08)	p ₁₋₂ =0,001 p ₁₋₃ =0,001
TNF- α	2,78(2,42-2,93)	2,52(1,99-3,05)	2,3 (2,12-2,47)	
IL-4	8,98(8,36-10,03)	8,79(8,72-9,18)	8,46(8,1-8,82)	

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃ - уровень значимости различий между группами детей.

4.2 – Состояние врожденного иммунитета недоношенных детей

В настоящем исследовании была проанализирована экспрессия маркеров активации моноцитов (CD14+CD282+, CD14+CD284+, CD14+HLA-DR, CD14+CD64+, CD14+CD11b+, CD14+CD11c+) и фагоцитарная активность лейкоцитарного фагоцитоза (гранулоцитов и моноцитов), отвечающих за идентификацию и ликвидацию бактериальных патогенов у недоношенных детей при рождении (в пуповинной крови) и по достижению ПКВ 37-40 недель.

Иммунологические показатели пуповинной крови характеризуют степень зрелости и функциональную активность иммунной системы плода. При исследовании относительного числа моноцитов статистически значимых различий не выявлено. В динамике периода наблюдения было установлено, что повышение степени колонизации кишечника условно-патогенной микрофлорой у недоношенных детей, сопровождалось активацией моноцитарно-макрофагального звена иммунной системы (таблица 29).

Таблица 29 - Уровень экспрессии маркеров активации моноцитов в пуповинной и периферической крови у недоношенных детей

Показатель, %	Период исследования	Уровень экспрессии маркеров активации моноцитов, Me (25-75)		
		1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)
CD14+CD282+	1-е сутки	36,5(12-58,7)	39,5(25,25-62,5)	54(31-73)
	ПКВ 37-40 нед.	78(69-84) ↑	67(43,5-79) ↑	77(74-78)
CD14+CD284+	1-е сутки	26(13-39,5)	35(25,25-49,5)	25(12-41)
	ПКВ 37-40 нед.	37(21-45)	29(20,5-59)	24(18,5-37,75)
CD14+CD11b+	1-е сутки	42(26-67)	54(45-65)	52(25-71)
	ПКВ 37-40 нед.	76(66-83)↑	75(64-80,5)↑	75(63-75)↑
CD14+CD11c+	1-е сутки	42(23-70)	64,5(43,5-73,25)	61(45-77)
	ПКВ 37-40 нед.	83(72-88) ↑	77(74,5-85) ↑	72(68-82)
CD14+CD64+	1-е сутки	40(18-66,5)	50(41,25-66,75)	56(31-73)
	ПКВ 37-40 нед.	74(68-82) ↑	61(52-72,5)	65(48-69)
CD14+HLA-DR+	1-е сутки	38(21-59)	51(40-66,75)	59(37-73)
	ПКВ 37-40 нед.	79(71-84) ↑	76(65,5-82,5)↑	81(78-86) ↑

Примечание: ↑ – $p < 0,05$ – уровень значимости различий между показателями врожденного иммунитета пуповинной и периферической крови; ПКВ 37-40 нед. – постконцептуальный возраст 37-40 недель.

К ПКВ 37-40 недель у детей ГВ 24-31 недели регистрировалась повышенная экспрессия большинства маркеров активации моноцитов, за исключением CD14+CD284+ клеток, количество которых не изменилось. Необходимо отметить, что у детей гестационного возраста 32-36 недель изменения в сторону возрастания отмечались только для CD14+CD11b+ и CD14+HLA-DR+ моноцитов. Статистически значимых различий между группами детей не выявлено.

Функциональная активность мононуклеаров пуповинной крови играет важную роль в поддержании постоянства внутренней среды организма. Способность специфических клеток к фагоцитарной функции необходима уже на раннем этапе формирования организма.

Результаты исследования фагоцитарной активности клеток пуповинной крови новорожденных, представлены в таблице 30.

Таблица 30 - Фагоцитарная активность гранулоцитов и моноцитов у недоношенных детей при рождении и в постконцептуальном возрасте 37-40 недель

Показатель, %	Фагоцитарная активность гранулоцитов и моноцитов, Ме (25-75)		
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)
Фаготест (гранулоциты)	1-е сутки		
	41,8(36,75-54,0)	54,0(39,0-63,0)	62,5(56,5-68,0)
	$p_{1-3}=0,0001$ $p_{1-2}=0,06$	$p_{2-3}=0,017$	
	Постконцептуальный возраст 37-40 недель		
	51,15(34,8-62,8)	63,0(55,97-72,0)↑	65,2(47,0-78,65)
	$p_{1-3}=0,017$ $p_{1-2}=0,017$		
Фаготест (моноциты)	1-е сутки		
	52,62(33,25-66,3)	52,0(35,0-71,0)	59,0(44,5-72,46)
	$p_{1-3}=0,04$	$p_{2-3}=0,03$	
	Постконцептуальный возраст 37-40 недель		
	64,0(53,48-80,23)↑	65,0(61,8-74,4)↑	67,0(62,0-89,0)↑

Примечание: p_{1-2} , p_{1-3} , p_{2-3} – уровень значимости различий между группами детей;
 ↑ – $p < 0,05$ – уровень значимости различий между показателями врожденного иммунитета пуповинной и периферической крови.

Проведенные исследования показали, что нейтрофильные гранулоциты и моноциты пуповинной крови недоношенных детей уже с 24 недели гестационного возраста включаются в процесс фагоцитоза и поглощают в среднем 50 % клеток, опсонированных бактериями. Однако у детей 1-й и 2-й групп отмечалось сниженное количество нейтрофильных гранулоцитов, наименьшее содержание фагоцитирующих клеток регистрировалось у детей 24-27 недель ГВ. Количество фагоцитирующих моноцитов у детей ГВ 24-27 и 28-31 недели было снижено на уровне тенденции относительно показателей группы сравнения, статистически значимых различий между 1-й и 2-й группами не выявлено.

По достижению ПКВ 37-40 недель у детей ГВ 24-27 недель относительное содержание нейтрофильных гранулоцитов сохранялось на прежнем уровне и статистически значимо отличалось от показателей детей большего гестационного возраста. Количество моноцитов в этой группе детей достоверно возрастало и не отличалось от показателей 2-й и 3-й групп.

В отличие от детей 1-й группы у детей ГВ 28-31 недели в динамике периода адаптации статистически значимо увеличивалось относительное содержание всех фагоцитирующих клеток. Статистически значимых различий в этот период с группой сравнения не выявлено.

4.3 – Микробная колонизация кожи, носовой полости, ротоглотки и нижних дыхательных путей

Морфологические особенности строения естественных барьеров организма недоношенных детей в сочетании с многочисленными инвазивными манипуляциями, длительным пребыванием в условиях стационара обуславливают формирование микробиома кожи и слизистых оболочек верхних дыхательных путей [60]. Вопросы, касающиеся развития микрофлоры кишечника изучаются активно, однако исследований, занимающихся изучением микробиоты кожи и дыхательных путей крайне мало.

В исследовании был проведен анализ микрофлоры кожи заушной складки, носовой полости, ротоглотки, трахеобронхиального дерева недоношенных детей с рождения и по достижению ПКВ 37–40 недель.

Бактериологический анализ носовой полости при рождении показал, что у детей основных групп и группы сравнения микрофлора отсутствовала. При исследовании микрофлоры ротоглотки выявлен рост *Staphylococcus haemolyticus* у одного ребенка. В бактериологических посевах с кожи заушной складки детектировалась микрофлора в единичных случаях в 1-й группе у трех новорожденных (*E. coli*, *S. epidermidis*, *Staphylococcus hominis*), во 2-й группе у двух детей (*E. coli*, *S. epidermidis*).

Микрофлора нижних дыхательных путей (трахеобронхиальное дерево) у новорожденных 1-й и 2-й группы, находящихся на ИВЛ, в 1-е сутки жизни при проведении бактериологического исследования не определялась.

К достижению раннего неонатального периода рост микроорганизмов в носовой полости был выявлен у 21,4 %, 24,1 %, 45,5 %, в ротоглотке у 14,3 %, 14,3 %, 14,3 %.

44,7 %, 45,5 %, при исследовании кожи заушной складки у 57,2 %, 68,8 %, 54,4 %, в 1-й, 2-й и 3-й группе соответственно.

По достижению ПКВ 37-40 недель колонизация микроорганизмами полости носа выявлена у 60,8 %, 51,6 %, 36,2 % детей, ротоглоточной области у 50,1 %, 51,7 %, 63,4 %, кожи 42,9 %, 62 % и 57,3 % детей 1-й, 2-й и 3-й групп соответственно.

На всем протяжении периода наблюдения микрофлора исследуемых биотопов характеризовалась доминированием грамположительных микроорганизмов (*S. epidermidis* и *S. hominis*, *S. haemolyticus*). Необходимо отметить, что перечисленные микроорганизмы являются нормальными составляющими микробиоты и не представляют крайней опасности для организма недоношенного ребенка. Однако морфофункциональная незрелость кожи и слизистых оболочек дыхательных путей недоношенного ребенка, санитарно-эпидемиологические особенности ОРПН, длительное нахождение в условиях стационара, необходимость инвазивных манипуляций, может опосредовать инвазию микроорганизмов в системный кровоток.

4.4 – Микрофлора молозива и грудного молока

В грудном молоке могут содержаться микроорганизмы. Бактерии могут быть эндогенными, но также могут попадать из окружающей среды (например, с кожи) во время сцеживания. В литературных данных сообщается, что микробиота грудного молока чаще представлена безобидными бифидобактериями, лактобактериями, коагулазонегативными стафилококками, но встречаются случаи выявления стрептококков группы В, *E. coli*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterococcus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Bacillus spp.* и *Moraxella spp.* [130].

При проведении бактериологического исследования молозива, проведенного в 1-е сутки после родов, было выявлено, что у большинства женщин, микробного роста при исследовании проб молозива, не отмечалось. К моменту достижения 7-10-х суток число проб грудного молока, в которых

выявлена микрофлора выросло и составило 73,7 %, 70,8 % и 79,2 % в основных группах и группе сравнения. При выписке из стационара рост микрофлоры обнаружен в грудном молоке у 75,1 %, 17,6 % и 42,9 % женщин 1-й, 2-й и 3-й группы соответственно. Наиболее часто встречающимся микроорганизмом, на всем протяжении периода обследования явился *S. epidermidis*.

В грудном молоке помимо трофических веществ содержится большое количество защитных иммунных компонентов, к которым относят: хемокины, про- и противовоспалительные цитокины, факторы роста, лактоферрин, лизоцим, пре- и пробиотики, а главным образом секреторный иммуноглобулин А [72].

При исследовании уровня sIgA было выявлено, что его концентрация была самой высокой в молозиве, в первые сутки после родов. Однако, в 1-й и 2-й группах, у женщин, родоразрешенных в наименьшем сроке, уровень sIgA был выше, чем у матерей, родивших в сроке 32-36 недель. К 7-10 суткам после родов, уровень sIgA в грудном молоке снизился у всех женщин и был практически одинаковым. К тому моменту как дети достигли постконцептуального возраста 37-40 недель, самая высокая концентрация sIgA, отмечалась в грудном молоке у матерей 1-й группы (таблица 31).

Таблица 31 - Содержание секреторного IgA в молозиве и грудном молоке у матерей

Срок исследования	Содержание секреторного IgA в молозиве и грудном молоке, пг/л, Me (25-75)			p
	1-я группа (n=28)	2-я группа (n=29)	3-я группа (n=33)	
1-3 сутки	72,04 (4,33-187,2)	84,34 (4,18-178,7)	1,36 (1,09-39,13)	p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,005
7-10 сутки	1,46 (1,0-1,89)	1,61 (1,39-2,08)	1,97 (1,21-4,51)	
Постконцептуальный возраст 37-40 недель	2,58 (1,73-6,98)	2,07 (1,24-4,43)	1,58 (1,3-2,76)	p ₁₋₃ =0,017

Примечание. p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – уровень статистической значимости между группами детей.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ, ИЗЛОЖЕННЫМ В ГЛАВЕ 4.

Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и индексируемых в международной базе данных Scopus:

1. Особенности врожденного и адаптивного иммунитета недоношенных детей с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы / Л.С. Устьянцева, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, С.Ю. Захарова, К.П. Шамова, С.В. Бычкова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2017; 62(3): 59-65. (ВАК, ИФ РИНЦ - 0,672; Scopus, CiteScore - 4).

2. Особенности иммунного ответа недоношенных детей с бронхолегочной дисплазией различной степени тяжести / Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, Л.С. Устьянцева, К.П. Шамова, М.А. Боцьковская, С.В. Бычкова, И.А. Газиева // Медицинская иммунология. 2019. Т.21, № 3. С.517-526. (ВАК, ИФ РИНЦ - 0,706; Scopus, CiteScore - 4).

3. Особенности экспрессии маркеров активации моноцитов у недоношенных детей различного гестационного возраста / Г.Н. Чистякова, К.П. Шамова, И.И. Ремизова, М.А. Боцьковская, С.В. Бычкова, Л.С. Устьянцева // Лечение и профилактика. 2018. Т.8, № 1. С.56-61. (ВАК, ИФ РИНЦ - 0,288).

4. Ремизова, И.И. Функциональная активность моноцитов у детей с ЭНМТ в динамике неонатального периода / И.И. Ремизова, К.П. Шамова, Г.Н. Чистякова // Российский иммунологический журнал. 2017. Т. 11 (20), № 3. С. 480-482. (ВАК, ИФ РИНЦ – 0,656).

5. Шамова, К.П. Содержание секреторного IgA в копрофильтратах у детей с экстремально низкой массой тела в динамике постнатального периода / К.П. Шамова, Л.С. Устьянцева // Медицинская иммунология. Иммунологические проблемы в педиатрии. 2017. Специальный выпуск, Т. 19. С. 250-251. (ВАК, РИНЦ – 0,706).

6. Патент РФ (11) 2 694 830 (13) С1: Способ прогнозирования развития бронхолегочной дисплазии тяжелой степени у недоношенных детей с экстремально низкой массой тела в неонатальном периоде / Л.С. Устьянцева, Г.Н.

Чистякова, И.И. Ремизова, С.В. Бычкова, К.П. Шамова; Федеральная служба по интеллектуальной собственности; 04.04.2018. Бюллетень № 10. С. 1-2.

Публикации в других изданиях:

7. Боцьковская, М.А. Особенности популяционного состава лимфоцитов и уровень экспрессии рецепторов cd282 и cd284 моноцитами пуповинной крови недоношенных детей / М.А. Боцьковская, И.И. Ремизова, К.П. Шамова // Интеграционные процессы в науке в современных условиях: сборник статей Международной научно-практической конференции (Новосибирск, 20 марта 2018). Уфа, 2018. Ч. 3. С. 129-134.

8. Концентрация секреторного IgA в молозиве и грудном молоке женщин, родивших раньше срока / К.П. Шакирова, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, [и др.] // Тенденция развития науки и образования. 2020. № 63, ч. 1. С.64-66

9. Особенности адаптивного иммунитета детей с экстремально низкой массой тела с тяжелой бронхолегочной дисплазией, родившихся в сроке сверхранных преждевременных родов / Г.Н. Чистякова, Л.С. Устьянцева, И.И. Ремизова, К.П. Шамова // Евразийский союз ученых: международный научно-исследовательский журнал. 2018. № 3 (48), ч. 1. С. 66-68. ISSN 2411-6467.

10. Особенности экспрессии толл-подобных рецепторов (tlr) tlr2 и tlr4 моноцитов у недоношенных детей различного гестационного возраста / К.П. Шакирова, И.И. Ремизова, Л.С. Устьянцева, М.А. Боцьковская // Европейский фонд инновационного развития: XL Международные чтения (памяти А.И. Ноткина) (Москва, 16 декабря 2018). Москва, 2018. С.146-150.

11. Уровень цитокинов пуповинной крови у детей, родившихся в сроке сверхранных преждевременных родов / Л.С. Устьянцева, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, К.П. Шамова // Актуальные проблемы педиатрии: XVIII Съезд педиатров России (Москва, 17-19 февраля 2017). Москва, 2017. Ч.1. С. 303.

12. Характер микробной колонизации и цитокиновый профиль у детей с экстремально низкой массой тела в динамике постнатального периода» / К.П. Шамова, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, Л.С. Устьянцева // Интернаука: международный научный журнал. 2017. № 3 (25), т. 1. С. 62-64.

13. Шамова, К.П. Дисбиотические нарушения кишечника у недоношенных детей с экстремально низкой массой тела в динамике постнатального периода / К.П. Шамова, Л.С. Устьянцева // Перинатальная медицина – от истоков к современности: научно-практическая конференция посвященная 140-летию ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России; V конгресс акушеров-гинекологов УФО (Екатеринбург, 13-14 октября 2017). Екатеринбург, 2017. С. 56-58.

14. Шамова, К.П. Микробиоценоз кишечника детей с ЭНМТ / К.П. Шамова, Л.С. Устьянцева // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: сборник статей II Международной (72 Всероссийской) научно-практической конференции (УГМУ, Екатеринбург, 12-14 апреля 2017). Екатеринбург, 2017. С. 796-799.

15. Features cellular and adaptive immunity of children with severe hypoxic-ischemic lesions of the central nervous system with extremely low birth weight / L.S. Ust'janceva, G.N. Chistjakova, I.I. Remizova, S.U. Zaharova, K.P. Shamova, S.V. Vychkova // *Fundamentalis scientiam: Scientific journal*. 2017. № 2(3). P.59-62.

16. Внутрибольничная колонизация кишечника детей с экстремально низкой массой тела бактериями рода *Klebsiella* в динамике постнатального периода / К.П. Шамова, Л.С. Устьянцева, Г.Н.Чистякова, И.И. Ремизова // Перинатальная медицина: новые технологии и междисциплинарные подходы: VIII конференция с международным участием (Екатеринбург, 14-15 октября 2016). Екатеринбург, 2016. С. 67.

ГЛАВА 5 – ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ОРОФАРИНГЕАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ МОЛОЗИВА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ, РОДИВШИХСЯ В СРОКЕ ГЕСТАЦИИ 24-27 НЕДЕЛЬ 6 ДНЕЙ ВКЛЮЧИТЕЛЬНО

5.1 – Характеристика клинического состояния недоношенных детей при применении метода орофарингеального введения молозива

На втором этапе настоящего исследования проведена оценка эффективности использования орофарингеального введения молозива на клиническое состояние, микробную колонизацию кишечника и иммунологические параметры недоношенных детей.

По совокупности клинических данных, дети от сверхранних преждевременных родов являются наиболее тяжелой категорией для выхаживания и составляют группу риска по развитию инфекционной патологии, о чем свидетельствуют результаты первого этапа исследования. В связи с чем, на втором этапе исследования, участвовали дети, родившиеся в сроке гестации 24-27 недель 6 дней включительно.

На 2 этапе апробирован метод орофарингеального введения молозива. Путем рандомизации методом «слепых» конвертов новорожденные подразделялись на две группы: 1-я группа – получающие орофарингеально молозиво при рождении (19 детей), 2-я группа – не получающие молозиво (20 детей).

Метод орофарингеального введения молозива. Использованный способ ротоглоточного (орофарингеального) двукратного введения молозива недоношенным новорожденным был разработан нами. Сцеживание молозива из груди матери производилось в операционно-родовом блоке, после извлечения ребенка предварительно обработанными перед манипуляцией руками в стерильных перчатках в стерильный одноразовый пластиковый контейнер с крышкой. Манипуляцию проводил врач-неонатолог.

Первичное введение молозива в объеме по 0,35 мл (7 капель) проводилось в оперативно-родовом блоке через 30-40 минут после рождения ребенка с помощью пластиковой одноразовой стерильной Пастеровской пипетки (объем 1 мл) вдоль слизистой правой и левой щеки по направлению к ротоглотке с каждой стороны в течение 2 минут. Повторное введение молозива осуществлялось не позднее первых 6 часов жизни.

Гестационный возраст в группах при рождении статистически значимо не отличался и составлял $27 \pm 0,94$ и $26,5 \pm 1,08$ недель ($p > 0,05$). Все дети имели экстремально низкую массу тела при рождении. Новорожденные были сопоставимы по антропометрическим показателям (таблица 32).

Таблица 32 - Антропометрические показатели детей

Показатели	Антропометрические показатели, (M±SD)	
	1-я группа (n=19), получали молозиво	2-я группа (n=20), не получали молозиво
масса, г	816±178,64	896,5±79,58
длина, см	33,8±2,74	34,9±1,85
окружность головы, см	24,6±1,95	25,6±1,50
окружность груди, см	22,2±2,52	23,0±2,4

Примечание: $p > 0,05$ во всех случаях.

Тяжесть состояния была обусловлена течением РДС, который регистрировался у всех детей. В 68,4 % и 60 % случаев новорожденные 1-й и 2-й групп нуждались в проведении ИВЛ ($p > 0,05$). Проведение респираторной поддержки методом СРАР потребовали 42,1 % и 40 % ($p > 0,05$). Сурфактантная терапия была проведена всем детям.

Показатели газового гомеостаза в обеих группах достоверно не отличались.

Исследование уровня общего белка при поступлении в ОРИТН до начала проведения парентерального питания показало отсутствие различий между исследуемыми группами детей ($42,08 \pm 9,12$ и $41,30 \pm 5,44$ г/л).

Известно, что дефицит запасов гликогена при рождении распространен

среди детей с ЭНМТ и малым гестационным возрастом, из-за плацентарной недостаточности и перинатальной гипоксии. Нами установлено, что у большинства недоношенных детей с ЭНМТ, при рождении (пуповинная кровь) регистрировалась гипогликемия, являющаяся опасным состоянием, сопряженным с риском развития неврологической патологии [30]. После двукратного введения молозива, концентрация глюкозы, исследованная через 4 часа после рождения (в периферической крови) у детей 1-й группы увеличилась, а у недоношенных новорожденных, не получавших молозиво – практически не изменилась, и был достоверно ниже, чем у детей 1-й группы ($p=0,040$). Уровень глюкозы, измеренный через 6 часов после рождения в периферической крови у детей, получавших молозиво, также превышал показатели новорожденных, не получавших молозиво ($p=0,010$) (таблица 33).

Таблица 33 - Уровень глюкозы в крови у недоношенных детей при применении метода орофарингеального введения молозива

Группы	Уровень глюкозы в сыворотке крови, ммоль/л, (M ±SD)		
	Пуповинная кровь	Периферическая кровь	
		Через 4 часа	Через 6 часов
1-я группа, дети, получавшие молозиво орофарингеально (n=19)	2,78±0,33	3,48±0,26	3,73±0,34
2-я группа, дети, не получавшие молозиво орофарингеально (n=20)	2,53±0,13	2,59 ±0,09	2,72 ±0,08
p	>0,05	<0,05	<0,05

Примечание: p – уровень значимости различий между группами детей.

При исследовании маркеров воспаления установлено, что у новорожденных, получавших молозиво, уровень С-реактивного белка в возрасте 12-24 часов жизни был в 1,5 раза ниже – 6,5 (4,4-22,9) против 9,82 (3,8-38,8) г/л ($p=0,04$).

По окончании раннего неонатального периода 79 % и 20 % детей 1-й и 2-й групп продолжали находиться в условиях ОРИТН. У большинства детей сохранялась потребность в респираторной поддержке.

Частота неврологической патологии (церебральной ишемии и внутрижелудочковых кровоизлияний) не отличалась. Тяжелая церебральная

ишемия наблюдалась у 85,9 % и 70 %, ВЖК различной степени тяжести у 68,4 % и 50 % детей 1-й и 2-й групп.

Различий в показателях кислотно-основного состояния, гематологических и биохимических к завершению раннего неонатального периода не выявлено.

При анализе инфекционной патологии на 7-10-е сутки жизни установлено, что в группе детей, получавших молозиво орофарингеально с первых часов после рождения, выявлено меньшее число случаев инфекции, перинатального периода ($p=0,019$), бактериального сепсиса ($p=0,04$), неонатальной пневмонии ($p=0,025$) (таблица 34).

Таблица 34 - Инфекционная патология недоношенных детей на 7-10-е сутки жизни при применении метода орофарингеального введения молозива

Патология (код по МКБ 10)	Частота инфекционной патологии				p
	1-я группа, получали орофарингеально молозиво (n=19)		2-я группа, не получали орофарингеально молозиво (n=20)		
	абс	%	абс	%	
Инфекция перинатального периода, неуточненная (P39.9)	9	47,4	17	85	0,019
Бактериальный сепсис новорожденного (P36)	0	0	4	20	0,04
Неонатальная пневмония (P23, J18)	5	26,3	13	65	0,025

Примечание: p – уровень значимости различий между группами детей.

К концу раннего неонатального периода большинство недоношенных детей находились на грудном вскармливании, несколько чаще материнское молоко получали дети 1-й группы (таблица 35).

Таблица 35 - Характер вскармливания недоношенных детей на 7-10-е сутки жизни при применении метода орофарингеального введения молозива

Вид вскармливания	Частота различных видов вскармливания			
	1-я группа, получали орофарингеально молозиво (n=19)		2-я группа, не получали орофарингеально молозиво (n=20)	
	абс	%	абс	%
Грудное	14	73,7	12	60
Искусственное	5	26,3	8	40
Смешанное	0	0	0	0

Примечание: $p > 0,05$ во всех случаях.

По достижению ПКВ 37-40 недель естественное вскармливание продолжали получать 31,6 % детей, получавших молозиво при рождении, во 2-й группе случаев грудного вскармливания не выявлено ($p_{1-2}=0,006$) (таблица 36).

Таблица 36 - Характер вскармливания недоношенных детей в постконцептуальном возрасте 37-40 недель при применении орофарингеального введения молозива

Вид вскармливания	Частота различных видов вскармливания			
	1-я группа, получали орофарингеально молозиво (n=19)		2-я группа, не получали орофарингеально молозиво (n=20)	
	абс	%	абс	%
Грудное	6	31,6	0	0
Искусственное	11	57,9	10	50
Смешанное	4	21,1	10	50

Примечание: $p > 0,05$ во всех случаях.

В группе детей, получающих молозиво орофарингеально, длительность парентерального питания была значительно короче, чем у детей, которым не проводилось орофарингеальное введение молозива, что свидетельствует о более быстром достижении полного объема энтерального вскармливания (150 мл/кг). Продолжительность зондовых кормлений была сопоставима в обеих группах (таблица 37).

Таблица 37 - Длительность парентерального и зондового питания у недоношенных детей при орофарингеальном введении молозива

Показатели	Длительность парентерального и зондового питания, Ме (25-75)		p
	1-я группа, получали орофарингеально молозиво (n=19)	2-я группа, не получали орофарингеально молозиво (n=20)	
Длительность парентерального питания, сутки	41±12,48	52±14,79	p=0,03
Длительность зондового питания, сутки	45,12±29,08	42,3±12,85	

Примечание: p – уровень значимости различий между группами детей.

У детей с ЭНМТ, которым проводилось орофарингеальное введение молозива отмечалась большая масса тела при выписке $2563,2 \pm 415,57$ против $2243,77 \pm 246,54$ ($p=0,035$).

Длительность пребывания детей обеих групп в условиях ОРИТН ($23,8 \pm 13,07$ и $21 \pm 11,12$ суток) и суммарная продолжительность нахождения в стационаре ($67,5 \pm 34,19$ и $66,9 \pm 16$ суток) не отличались.

Продолжительность респираторной поддержки была сопоставима в первой и второй группах (ИВЛ: $12,3 \pm 10,6$ и $11,4 \pm 10,78$ суток, СРАР: $7,4 \pm 8,92$ и $4,5 \pm 2,08$ суток).

Частота перинатальных поражений ЦНС осталась на прежнем уровне, как и в раннем неонатальном периоде.

При исследовании инфекционной патологии было выявлено, что к постконцептуальному возрасту 37-40 недель характер заболеваемости не отличался в обеих группах. Из инфекционной патологии наиболее часто регистрировалась госпитальная пневмония (57,9 % и 70 % случаев, $p>0,05$).

Развитие анемии наблюдалось у всех детей 1-й и 2-й группы. Анемия тяжелой степени, в результате чего требовалось проведение гемотрансфузии в 89,5 % и 100 % случаев ($p>0,05$).

Частота бронхолегочной дисплазии (61,6 % и 56,7 %) была сопоставима в обеих группах ($p > 0,05$), ретинопатия диагностировалась у всех детей.

При анализе проводимой антибактериальной терапии различий в исследуемых группах не обнаружено.

Таким образом, у новорожденных, получающих орофарингеальное введение молозива, отмечалось значимое снижение инфекционной патологии в раннем неонатальном периоде. Следует отметить более низкую концентрацию С-реактивного белка в этой группе детей и повышение уровня глюкозы, через 4 и 6 часов после введения молозива.

Длительность проведения парентерального питания, у детей, получавших молозиво, была значительно короче, а частота грудного вскармливания в ПКВ 37-40 недель выше, чем у детей 2-й группы. Кроме того, к моменту выписки в 1-й группе наблюдалась большая масса тела.

5.2 – Микробная колонизация кишечника недоношенных детей, получавших молозиво орофарингеально

При исследовании микробной колонизации кишечника выявлено, что условно-патогенная микрофлора на 1-е сутки жизни обнаруживалась в меконии в единичных случаях у детей, получавших молозиво орофарингеально (*Streptococcus anginosus* 10^3 КОЕ/г, *E. coli* 10^5 КОЕ/г и *Candida* 10^5 КОЕ/г).

К завершению раннего неонатального периода частота ее выделения возросла до 47,4 % и 45 %. У новорожденных, получавших орофарингеальное введение молозива, наиболее часто детектировались неферментирующие грамотрицательные бактерии, наиболее часто выявлялся рост *S. maltophilia* (в количествах 10^3 - 10^5 КОЕ/г), грамотрицательные энтеробактерии, представленные микроорганизмами *K. pneumoniae* и *K. oxytoca* в диагностически значимых титрах регистрировались у 21 % (более 10^4 КОЕ/г). Во 2-й группе доминировал рост грамположительных кокков (в титре до 10^4 КОЕ/г) (таблица 38).

Таблица 38 - Микробная колонизация толстого кишечника у недоношенных детей на 7-10-е сутки жизни при применении метода орофарингеального введения молозива

Микроорганизмы	Частота выделения микроорганизмов			
	1-я группа (n=19)		2-я группа (n=20)	
	абс	%	абс	%
Не выявлены	10	52,6	11	55
Грамотрицательные неферментирующие бактерии	5	26,3	3	15
Энтеробактерии	4	21	2	10
Коагулазонегативные стафилококки и энтерококки	0	0	4	20

Примечание: $p > 0,05$ во всех случаях.

По достижению ПКВ 37-40 недель кишечник был колонизирован практически у всех новорожденных. В обеих группах с одинаковой частотой регистрировался рост энтеробактерий (наиболее часто встречались *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. cloacae* более 10^4 КОЕ/г и *E. coli* более 10^7 КОЕ/г), однако количество грамположительных микроорганизмов во 2-й группе отмечалось значительно чаще (таблица 39).

Таблица 39 - Микробная колонизация толстого кишечника у недоношенных детей в постконцептуальном возрасте 37-40 недель при применении метода орофарингеального введения молозива

Микроорганизмы	Частота выделения микроорганизмов			
	1-я группа (n=19)		2-я группа (n=20)	
	абс	%	абс	%
Не выявлены	4	21	0	0
Грамотрицательные неферментирующие бактерии	1	5,3	0	0
Энтеробактерии	10	52,6	11	55
Коагулазонегативные стафилококки и энтерококки	3	15,8*	8	40
Микробные ассоциации	1	5,3	1	5

Примечание: * – $p < 0,05$ - уровень значимости различий между группами детей.

5.3 – Содержание секреторного иммуноглобулина А в копрофильтратах детей, получавших и не получавших орофарингеальное введение молозива

Значительную роль в защите новорожденного от инфекции играет гуморальный иммунитет. У недоношенных детей, по существу, отсутствует трансплацентарный перенос материнских антител и протективный иммунитет обеспечивают сывороточный и секреторный IgA, который ребенок начинает получать постнатально с молозивом, а затем с грудным молоком.

Результаты исследования sIgA в копрофильтратах показали, что содержание данного иммуноглобулина у недоношенных новорожденных 1-й группы достоверно превышали аналогичные показатели детей 2-й группы на протяжении первых 10 суток жизни ($p < 0,05$). По достижению возраста доношенного ребенка, значимых различий не выявлено, однако, в 50 % случаев у детей, получавших молозиво в первые часы жизни уровень sIgA составлял более 5,0 г/л против 20 % детей 2-й группы ($p < 0,05$) (таблица 40).

Таблица 40 - Уровень секреторного IgA в копрофильтратах недоношенных детей в динамике периода наблюдения при применении метода орофарингеального введения молозива

Группы	Уровень секреторного IgA в копрофильтратах недоношенных детей, г/л, Me (25-75)		
	1-е сутки	7-10-е сутки	ПКВ 37-40 недель
1-я группа, дети, получавшие молозиво орофарингеально (n=19)	2,24(0,88-5,4)	11,31(7,29 - 18,37)	9,33 (4,6-15,33)
2-я группа, дети, не получавшие молозиво орофарингеально (n=20)	0,78(0,25-1,1)	5,18(0,81-14,64)	2,58 (0,81-17,2)
p	<0,05	<0,05	

Примечание: p – уровень значимости различий между группами детей.

Кроме того, в 1-й группе детей обнаружены положительные корреляционные взаимосвязи между содержанием sIgA в грудном молоке, копрофильтратах и колонизацией кишечника условно-патогенными микроорганизмами (УПМ), в группе детей, получавших молозиво (рисунок 2).

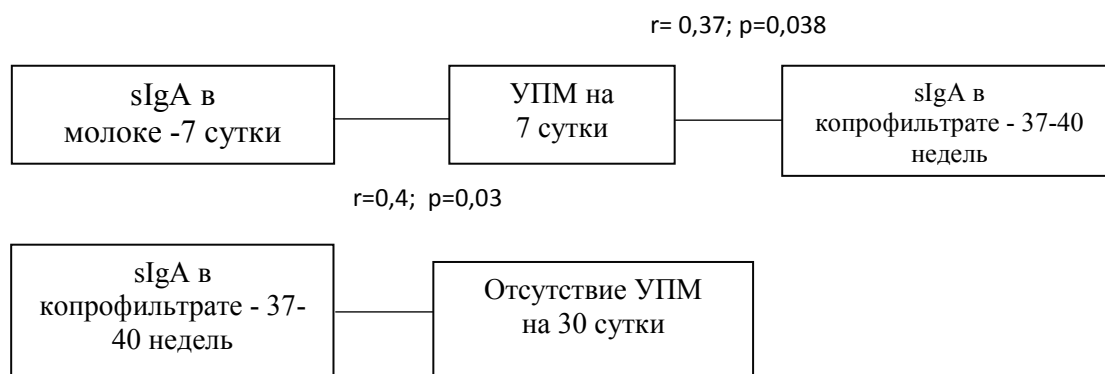


Рисунок 2 - Корреляционные взаимосвязи между sIgA и наличием условно-патогенной микрофлоры у детей, получавших молозиво орофарингеально

Содержание sIgA в молозиве и грудном молоке матерей не отличалось (таблица 41).

Таблица 41 - Уровень секреторного IgA в молозиве и грудном молоке у матерей недоношенных детей

Срок исследования	Уровень секреторного IgA в молозиве и грудном молоке, пг/л, Me (25-75)	
	1-я группа (n=19), получали молозиво	2-я группа (n=20), не получали молозиво
1-е сутки	40,93(3,75-168,89)	40,02 (2,96-183,58)
7-10-е сутки	2,1(1,48-4,9)	1,72 (1,4-2,24)
Постконцептуальный возраст 37-40 недель	1,65(1,2-4,67)	2,07(1,27-3,15)

Примечание: p >0,05 во всех случаях.

В группе детей, не получавших молозиво, отмечалась отрицательная корреляционная связь между содержанием sIgA в раннем неонатальном периоде и частотой развития пневмонии, и положительная взаимосвязь между содержанием

sIgA на 7-10-е сутки жизни и кокковой микрофлорой, которая выделялась в этот же период (рисунок 3).

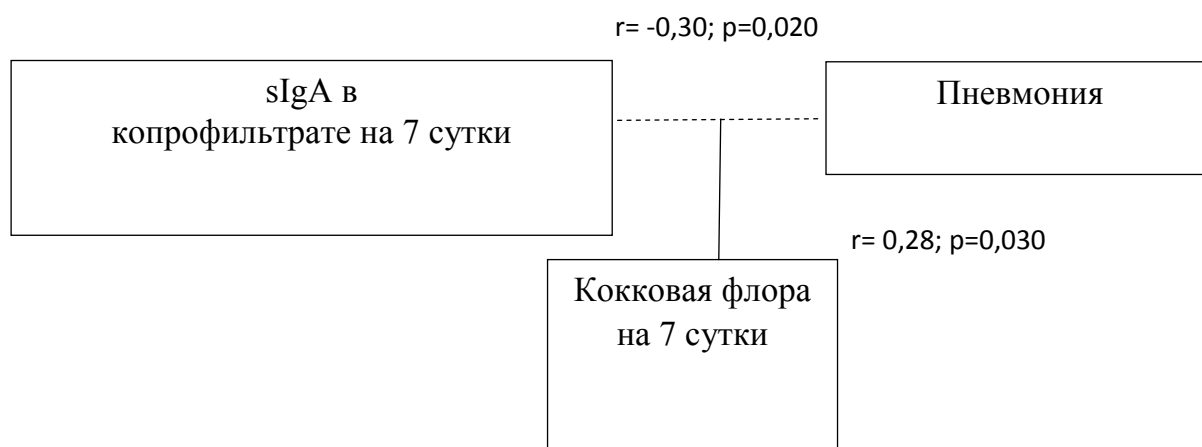


Рисунок 3 - Корреляционные взаимосвязи между sIgA, наличием условно-патогенной микрофлоры и пневмонией у детей, не получавших молочно-орофарингеально

Выявлены корреляционные взаимосвязи между концентрацией sIgA в ПКВ 37-40 недель и содержанием *E. coli* и *K. oxytoca* в кале в ПКВ 37-40 недель (рисунок 4).

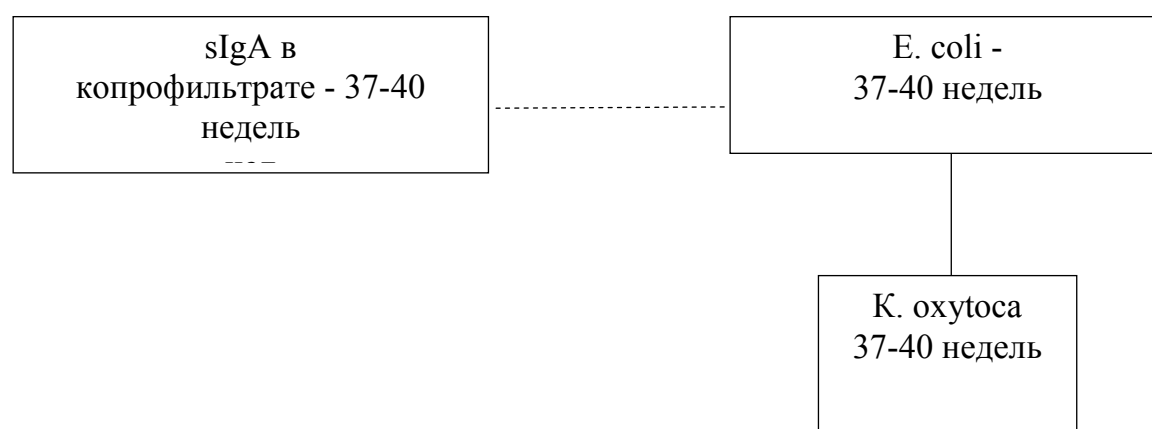


Рисунок 4 - Корреляционные взаимосвязи между sIgA, наличием условно-патогенной микрофлоры и пневмонией у детей, не получавших молочно-орофарингеально

5.4 – Особенности врожденного иммунитета недоношенных детей при орофарингеальном введении молозива

При исследовании пуповинной крови статистически значимых различий в уровне экспрессии маркеров активации моноцитов не выявлено. К достижению ПКВ 37-40 недель в периферической крови недоношенных детей, получивших молозиво орофарингеально, отмечалось статистически значимое снижение относительного содержания моноцитов по сравнению с первоначальными показателями, установленными при рождении ($p < 0,05$). Количество моноцитов с рецепторами CD14+CD64+, CD14+CD11b+, CD14+CD11c+ и CD14+HLA-DR+ превышало аналогичные показатели пуповинной крови ($p < 0,05$) (таблица 42).

Таблица 42 - Уровень экспрессии маркеров активации моноцитов в пуповинной и периферической крови у недоношенных детей при применении метода орофарингеального введения молозива

Показатель, %	Уровень экспрессии маркеров активации моноцитов, Me (25-75)			
	1-е сутки жизни (пуповинная кровь)		ПКВ 37-40 недель (периферическая кровь)	
	1-я группа, получали молозиво (n=19)	2-я группа, не получали молозиво (n=20)	1-я группа, получали молозиво (n=19)	2-я группа, не получали молозиво (n=20)
Моноциты	12,5(9,25-17,0)	11,0(8,0-15,0)	9,0 (7,0-11,5)*	12(9,0-14,5)
CD14+CD282+	48,0(30,5-69,0)	38,0(25,0-51,0)	68,5(62,8-77,8) p ₁₋₂ =0,035	79,0(68,5-85,5)#
CD14+CD284+	31,0(23,25-39,0)	35,0(25,0-55,0)	33,0(22,5-44)	29,1(18,5-60)
CD14+CD64+	51,0(40,0-68,5)	48,5(27,5-66,5)	65,0(45,5-76,5)* p ₁₋₂ =0,04	71,5(59,5-81)#
CD14+CD11b+	50,0(38,5-65,5)	48,0(34,0-63,0)	74,5(66,0-83,0)*	76(66,25-84)#
CD14+CD11c+	52,0(35,5-73,0)	68,0(44,0-71,5)	72 (65-82,5)* p ₁₋₂ =0,017	84,5(77,5-88,0)#
CD14+HLA-DR+	58,0(32,5-68,0)	46,0(32,0-51,0)	73,5 (64,5-80,3)* p ₁₋₂ =0,018	83,0 (74,0-87,5)#

Примечание: * $p < 0,05$ – уровень значимости различий в пуповинной и периферической крови у новорожденных 1-й группы, # $p < 0,05$ – уровень значимости различий в пуповинной и периферической крови у новорожденных 2-й группы; p₁₋₂ – уровень значимости различий между 1-й и 2-й группами.

У детей, не получавших молозиво при рождении, общее количество моноцитов в динамике периода адаптации не изменялось. Однако относительное число CD14+CD282+ клеток, увеличивалось в 2,1 раза, относительно первоначального уровня и статистически значимо превышало аналогичные показатели детей 1-й группы. Процентное содержание молекул CD14+CD64+, CD14+CD11b+, CD14+CD11c+ и CD14+HLA-DR+ также достоверно увеличивалось, как относительно значений пуповинной крови, так и по сравнению с показателями детей, получавших молозиво с первых часов жизни, что отражает активацию врожденного иммунитета на колонизацию кишечника условно-патогенными микроорганизмами.

Установлены отрицательные корреляционные взаимосвязи между экспрессией маркеров активации моноцитов и частотой развития инфекционной патологии в ПКВ 37-40 недель в группе детей, получавших молозиво после рождения (рисунок 5).

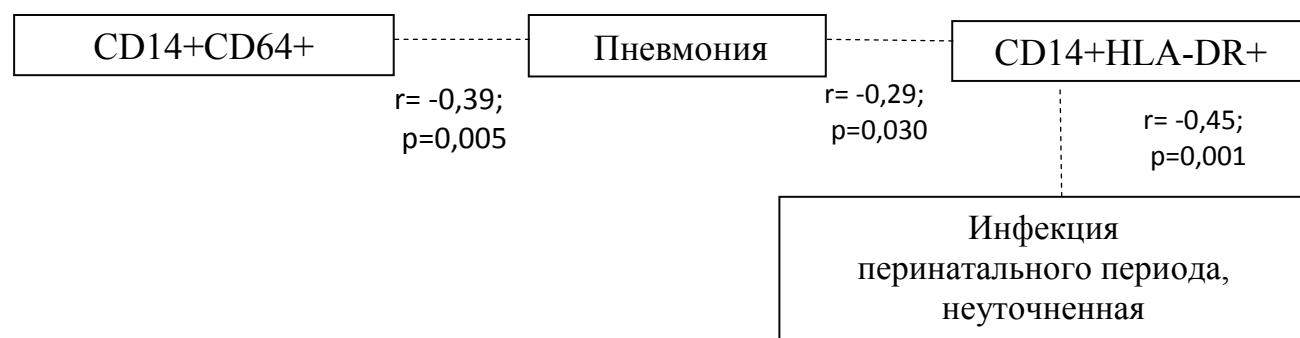


Рисунок 5 - Корреляционные взаимосвязи между показателями врожденного иммунитета и наличием патологии у детей, получавших молозиво орофарингеально

Анализ фагоцитарной активности недоношенных детей при рождении показал отсутствие статистически значимых различий в количестве фагоцитирующих клеток (таблица 43).

В динамике периода наблюдения у детей, получавших молозиво, среднее количество нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов увеличилось незначительно, на 20 % и 30 %, соответственно. У детей, не получавших

молозиво, наблюдалось статистически значимое повышение относительного числа фагоцитов, поглотивших бактерии, по сравнению с первоначальным уровнем и в сравнении с детьми получивших молозиво (таблица 43).

Таблица 43 – Фагоцитарная активность моноцитов и гранулоцитов у недоношенных детей при применении метода орофарингеального введения молозива

Показатель, %	Уровень экспрессии маркеров активации моноцитов, Ме (25-75)			
	1-е сутки жизни (пуповинная кровь)		ПКВ 37-40 недель (периферическая кровь)	
	1-я группа, получали молозиво (n=19)	2-я группа, не получали молозиво (n=20)	1-я группа, получали молозиво (n=19)	2-я группа, не получали молозиво (n=20)
Фаготест (гранулоциты)	47,5 (35,0-55,0)	46,0 (39,0-63,0)	50,0 (37,28-59,94) $p_{1-2}=0,010$	63,65 (56,2-70,8)#
Фаготест (моноциты)	50,0 (37,5-67,0)	55,23 (41,0-70,0)	61,8 (45,59-70,71) $p_{1-2}=0,003$	72,2 (62,3-81,8)#

Примечание: # $p < 0,05$ – уровень значимости различий в пуповинной и периферической крови у новорожденных 2-й группы; p_{1-2} – уровень значимости между 1-й и 2-й группами.

При проведении корреляционного анализа выявлены положительные взаимосвязи между относительным числом фагоцитирующих моноцитов с частотой выявления ацинетобактерий (*Acinetobacter lwoffii*) и неферментирующими грамотрицательными бактериями (НГОб) на 30 сутки жизни (рисунок 6).

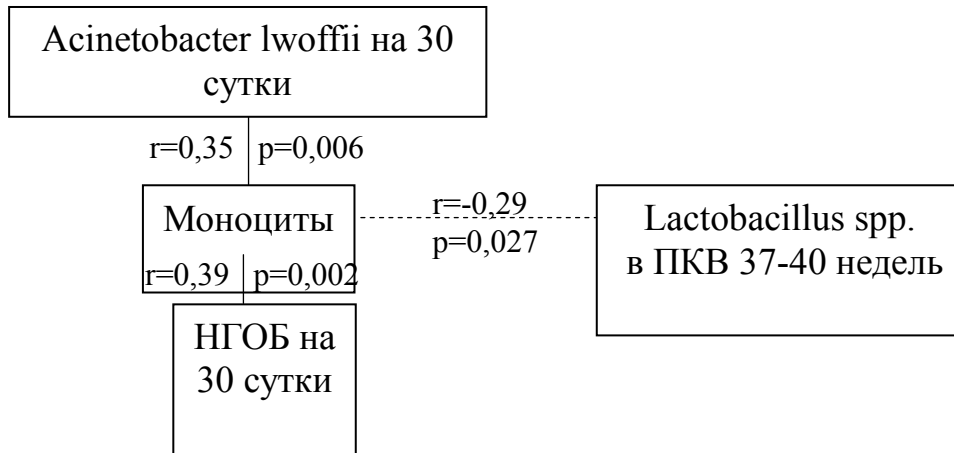


Рисунок 6 - Корреляционные взаимосвязи между фагоцитирующими моноцитами в постконцептуальном возрасте 37-40 недель и наличием условно-патогенной микрофлоры у детей, не получавших молозиво орофарингеально

Необходимо отметить и отрицательную корреляцию между фагоцитарной активностью моноцитов и низкой частотой встречаемости лактобактерий в кишечнике в ПКВ 37-40 недель у детей, не получавших молозиво.

У детей, получавших молозиво, обнаружены отрицательные взаимосвязи между относительным числом фагоцитирующих моноцитов с наличием инфекции перинатального периода, неонатальной пневмонией, неферментирующими грамотрицательными бактериями и положительная корреляция с *Bifidobacterium spp.* (рисунок 7).

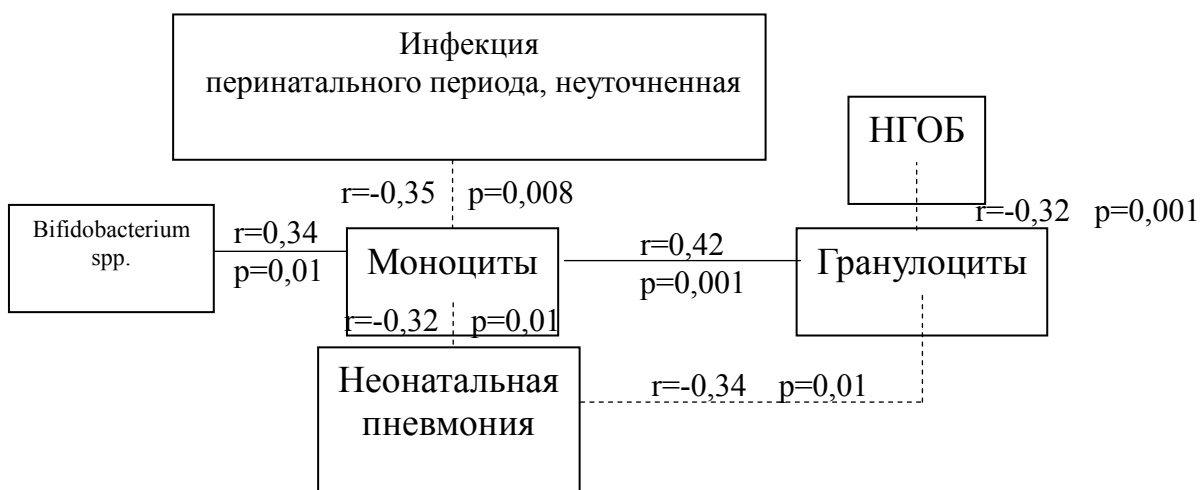


Рисунок 7 - Корреляционные взаимосвязи между фагоцитирующими моноцитами в постконцептуальном возрасте 37-40 недель и наличием условно-патогенной микрофлоры у детей, получавших молозиво орофарингеально

5.5 – Прогнозирование риска развития инфекционной патологии у недоношенных детей от сверхранних и ранних преждевременных родов

Инфекционная патология является одной из актуальных проблем неонатологии и ведущей причиной заболеваемости и смертности новорожденных [37, 45, 78]. От инфекционных заболеваний в неонатальном периоде умирает 7,6 миллионов детей в возрасте до 5 лет. От общего числа умерших 40 % приходится на долю новорожденных [89].

Следовательно, актуален поиск новых простых и информативных признаков прогнозирования инфекции, специфичной для перинатального периода.

Целью изобретения явилась разработка способа раннего прогнозирования инфекций перинатального периода у детей с ЭНМТ и ОНМТ (от сверхранних и ранних ПР соответственно) путем определения уровня С-реактивного белка, количества баллов по шкале Апгар на 5 минуте жизни с учетом гестационного возраста ребенка и последующим вычислением прогностического индекса (PI) по формуле:

$$PI = 1,028 \times X1 - 0,154 \times X2 - 1,8 \times X3 - 16,171, \quad [1]$$

где:

X1 – гестационный возраст ребенка, недели;

X2 – уровень С-реактивного белка,

X3 – шкала Апгар на 5 минуте жизни, баллы

16,171 – Const

При PI более 0 прогнозируют низкий риск инфекций специфичных для перинатального периода (по МКБ 10 P39.9), а при PI менее 0 делают заключение о высоком риске развития этой патологии у недоношенных детей с ЭНМТ и ОНМТ.

Чувствительность предлагаемого способа составляет 88,5 %, специфичность – 100 %. Эффективность способа – 94,25 %.

Пример 1. Новорожденный мальчик, родился у 23-летней первородящей женщины. Беременность протекала на фоне нарушения маточно-плацентарного кровотока I степени, хронической плацентарной недостаточности субкомпенсированной формы, тяжелой преэклампсии. Преждевременные

оперативные роды в сроке гестации 27 недель. Масса тела при рождении составила 590 г, оценка по шкале Апгар на 5 минуте жизни составила 7 баллов. Уровень СРБ в возрасте 12 часов жизни 5 г/л.

По формуле определили значение прогностического индекса:

$PI = 1,028 \times 27 - 0,154 \times 5 - 1,8 \times 7 - 16,171 = -1,785$, что меньше 0 и свидетельствует о высоком риске развития инфекции, специфичной для перинатального периода (код по МКБ 39.9). На 4-е сутки жизни рентгенологически выявлена пневмония. Выписана из стационара на 66 сутки жизни.

Пример 2. Новорожденная девочка родилась у 37-летней повторнобеременной женщины. Беременность настоящая протекала на фоне истмико-цервикальной недостаточности, преждевременного разрыва плодного пузыря. Роды преждевременные оперативные в сроке гестации 28 недель. Масса тела при рождении составила 1150 г, оценка по шкале Апгар на 5 минуте жизни составила 7 баллов. Уровень СРБ в возрасте 12 часов жизни 7,4 г/л.

По формуле определили значение прогностического индекса:

$PI = 1,028 \times 28 - 0,154 \times 7,4 - 1,8 \times 7 - 16,171 = -1,126$, что меньше 0 и свидетельствует о высоком риске развития инфекции, специфичной для перинатального периода. У данного ребенка наблюдались воспалительные изменения в общем анализе крови в начале вторых суток жизни (лейкоцитоз $25,68 \times 10^9/л$), на третьи сутки рентгенологически выявлена пневмония. Выписан из стационара на 47 сутки жизни.

Пример 3. Новорожденный мальчик родился у 29-летней повторнобеременной женщины. Настоящая беременность протекала на фоне нарушения маточно-плацентарного кровотока III степени, хронической плацентарной недостаточности субкомпенсированной формы, тяжелой преэклампсии. Роды преждевременные в сроке гестации 28 недель. Масса тела при рождении составила 1150 г, оценка по шкале Апгар на 5 минуте жизни составила 7 баллов. Уровень СРБ в возрасте 12 часов жизни 2,9 г/л.

По формуле определили значение прогностического индекса:

$PI = 1,028 \times 28 - 0,154 \times 2 - 1,8 \times 7 - 16,171 = 1,36$, что больше 0 и свидетельствует о низком риске развития инфекции, специфичной для перинатального периода. У ребенка не регистрировалось воспалительных изменений по данным гемограммы, не наблюдалось пневмонии по данным рентгенографического исследования органов грудной полости. Выписан на 32 сутки жизни.

Пример 4. Новорожденный мальчик, родился у 22-летней повторнородящей женщины. Данная беременность шестая, протекала на фоне субкомпенсированной хронической плацентарной недостаточности, нарушения маточно-плацентарного кровотока I степени, маловодия. Роды преждевременные оперативные в 28 недель. Масса тела при рождении 1000 г, оценка по шкале Апгар 4/6 баллов. Уровень СРБ в возрасте 12 часов жизни 2,8 г/л.

Пневмония в неонатальном периоде является одной из наиболее распространенных инфекционных патологий у недоношенных детей в отделениях интенсивной терапии новорожденных. Неонатальная пневмония - острое инфекционное заболевание, вызванное микроорганизмами различной, преимущественно бактериальной этиологии, характеризующееся очаговым поражением респираторных отделов легких, наличием внутриальвеолярной экссудации, выявляемой при физикальном или инструментальном обследовании и различной степени выраженности симптомами системного воспаления. Частота неонатальной пневмонии составляет около 1 % среди доношенных и около 10 % среди недоношенных новорожденных. У новорожденных, находящихся на ИВЛ, заболеваемость нозокомиальной пневмонией может достигать 40 % [13]. Развитие пневмонии ассоциировано с удлинением продолжительности пребывания и проведения антибактериальной терапии [81,161].

По времени возникновения выделяют пневмонии, проявившиеся в первые 72 часа жизни и постнатальные неонатальные пневмонии – после 72 часов. Неонатальные пневмонии, возникшие в первые дни жизни, отмечаются примерно в 10-20 % от общего числа случаев инфекционных поражений легких у новорожденных детей. Как правило, причиной развития такой пневмонии

является аспирация инфицированных околоплодных вод. Основным фактором, предрасполагающим к развитию пневмонии после рождения ребенка, в настоящее время является аппаратная искусственная вентиляция легких («вентилятор-ассоциированные» пневмонии) [13].

Не всегда в практике удается верифицировать пневмонию, так как клиническая картина неспецифична, в особенности у недоношенных детей, а рентгенологические изменения требуют дифференциальной диагностики с респираторным дистресс-синдромом. Данный факт затрудняет принятие решений в лечебной тактике, таких как: своевременное усиление или изменение антибактериальной терапии, выбор метода респираторной поддержки.

Данный факт делает актуальным поиск новых простых и информативных признаков прогнозирования пневмонии.

Целью изобретения явилась разработка способа раннего прогнозирования формирования неонатальной пневмонии у детей от сверхранних и ранних ПР (24-31 неделя 6 дней) путем определения относительного содержания фагоцитирующих нейтрофильных гранулоцитов, CD282+CD14+ моноцитов с учетом гестационного возраста ребенка и последующим вычислением прогностического индекса (PI).

(PI) по формуле:

$$PI = 1,687 \times X_1 + 0,064 \times X_2 - 0,041 \times X_3 - 47,684, \quad [2]$$

где:

X_1 – гестационный возраст ребенка, недели;

X_2 – относительное содержание фагоцитирующих нейтрофильных гранулоцитов, %;

X_3 – процентное содержание CD282+CD14+ моноцитов, %;

47,684 – Const

при PI более 0 прогнозируют низкий риск развития неонатальной пневмонии, а при PI менее 0 делают заключение о высоком риске развития этой патологии у недоношенных детей от сверхранних и ранних ПР.

Чувствительность предлагаемого способа составляет 87,5 %, специфичность – 100 %.

Пример 1. Новорожденный мальчик, родился у 27-летней первородящей женщины, беременность протекала на фоне нарушения маточно-плацентарного кровотока I степени, гестационного сахарного диабета. Преждевременные оперативные роды в сроке гестации 27 недель. Масса тела при рождении составила 790 г, длина 35 см, оценка по шкале Апгар 5/7 баллов. Показатели пуповинной крови при рождении: CD14+CD282+ моноциты – 7%, фагоцитирующие нейтрофильные гранулоциты – 75%.

По формуле определили значение прогностического индекса:

$PI = 1,687 \times 27 + 0,064 \times 75 - 0,041 \times 7 - 47,684 = 2,385$, что больше 0 и свидетельствует о низком риске развития пневмонии в неонатальном периоде.

Ребенку проводилась дыхательная поддержка методом СРАР в течение 1,5 суток, искусственная вентиляция легких не осуществлялась. На этап реабилитации переведен в возрасте 6 суток жизни. На всем протяжении неонатального периода пневмония не выявлена.

Пример 2. Новорожденная девочка родилась у 35-летней повторнородящей женщины, соматически отягощенной артериальной гипертензией II степени. Беременность настоящая протекала на фоне хронической плацентарной недостаточности, субкомпенсированная форма, тяжелой преэклампсии, генетической тромбофилии. Роды преждевременные оперативные в сроке гестации 30 недель. Масса тела при рождении составила 1120 г, длина 36 см, оценка по шкале Апгар 5/7 баллов. Показатели пуповинной крови при рождении: CD14+CD282+ моноциты – 36%, фагоцитирующие нейтрофильные гранулоциты – 73%.

По формуле определили значение прогностического индекса:

$PI = 1,687 \times 30 + 0,064 \times 73 - 0,041 \times 36 - 47,684 = 6,122$, что больше 0 и свидетельствует о низком риске развития пневмонии в неонатальном периоде.

Ребенку проведена дыхательная поддержка методом СРАР в течение 2 суток, искусственная вентиляция легких не осуществлялась. На этап

реабилитации переведена в возрасте 10 суток жизни. На всем протяжении неонатального периода пневмония не выявлена.

Пример 3. Новорожденная девочка родилась у 37-летней повторнородящей женщины, соматически отягощенной анемией I степени. Настоящая беременность протекала на фоне истмико-цервикальной недостаточности, пролабирования плодного пузыря. Роды преждевременные в сроке гестации 24 недели. Масса тела при рождении составила 910 г, длина 34 см, оценка по шкале Апгар 3/5 баллов. Показатели пуповинной крови при рождении: CD14+CD282+ моноциты – 51%, фагоцитирующие нейтрофильные гранулоциты – 73%.

По формуле определили значение прогностического индекса:

$PI = 1,687 \times 24 + 0,064 \times 27 - 0,041 \times 51 - 47,684 = -7,559$, что меньше 0 и свидетельствует о высоком риске развития пневмонии в неонатальном периоде.

В раннем неонатальном периоде у ребенка диагностирована неонатальная пневмония. Проведена дыхательная поддержка ИВЛ в течение 9 суток, далее СРАР в течение 4 суток. На этап реабилитации переведена в возрасте 14 суток жизни.

Пример 4. Новорожденный мальчик, родился у 43-летней повторнородящей женщины, соматически отягощенной хроническим пиелонефритом. Данная беременность шестая, протекала на фоне декомпенсированной хронической плацентарной недостаточности, пролабирования плодного пузыря, гестационного сахарного диабета, истмико-цервикальной недостаточности, длительного безводного промежутка. Роды преждевременные оперативные в 27 недель. Масса тела при рождении 1100 г, длина – 35 см, оценка по шкале Апгар 4/5 баллов. Показатели пуповинной крови при рождении: CD14+CD282+ моноциты – 12%, фагоцитирующие нейтрофильные гранулоциты – 36%.

По формуле определили значение прогностического индекса:

$PI = 1,687 \times 27 + 0,064 \times 36 - 0,041 \times 12 - 47,684 = -0,323$, что меньше 0 и свидетельствует о высоком риске развития пневмонии в неонатальном периоде.

В раннем неонатальном периоде у ребенка диагностирована неонатальная пневмония. Проведена дыхательная поддержка ИВЛ в течение 27 суток, далее

СРАР в течение 12 суток. На этап реабилитации переведен в возрасте 43 суток жизни.

Эффективность способа – 93,75 %.

Таким образом, раннее прогнозирование развития неонатальной пневмонии и инфекции перинатального периода у недоношенных детей предлагаемыми способами позволяет в первые сутки жизни выявить риск развития данных патологических состояний.

Заявляемые способы прогнозирования инфекционной патологии у недоношенных детей с экстремально низкой и очень низкой массой тела в сравнении с существующими имеют следующие преимущества: позволяют прогнозировать развитие инфекционных заболеваний в первые сутки жизни.

5.5.1 – Алгоритм дополнительного обследования детей, родившихся в сроке сверхранних и ранних преждевременных родов

В процессе исследования выявлены наиболее информативные показатели для прогнозирования неонатальной пневмонии и инфекции перинатального периода, что позволяет включить их в дополнение к стандартным протоколам обследования недоношенных новорожденных, родившихся в сроке сверхранних и ранних преждевременных родов для определения групп высокого риска по развитию инфекционного процесса (рисунок 8).

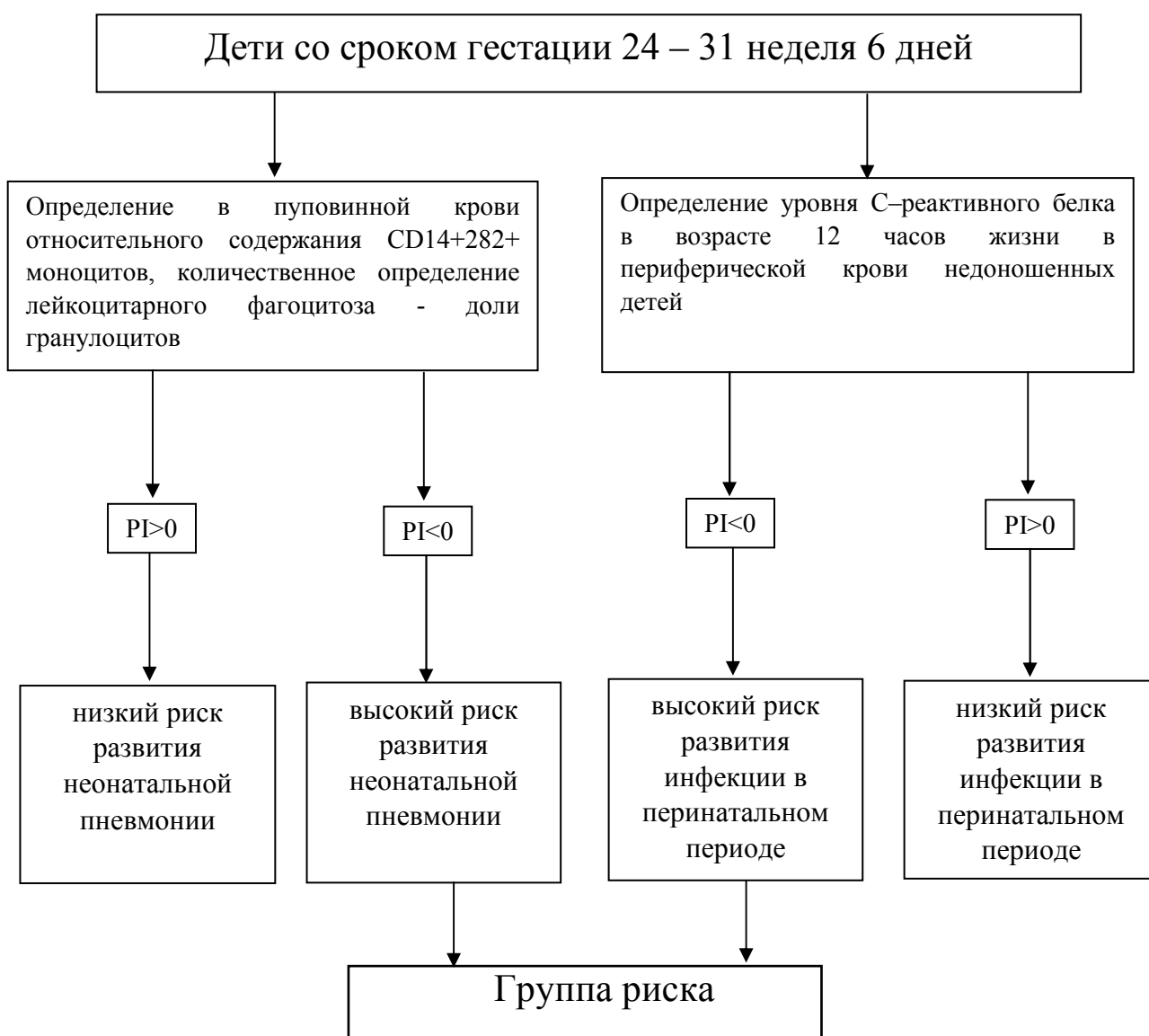


Рисунок 8 – Алгоритм дополнительного обследования детей со сроком гестации 24 - 31 недели 6 дней для прогнозирования развития инфекционной патологии в неонатальном периоде

Алгоритм позволяет с момента рождения объективно оценить риск развития инфекционной патологии у недоношенных новорожденных, тем самым позволяя выбрать рациональную тактику антибактериальной терапии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ, ИЗЛОЖЕННЫМ В ГЛАВЕ 5.

1. Шакирова, К.П., Содержание секреторного IgA копрофильтартах недоношенных детей при применении ротоглоточного введения молозива / К.П. Шакирова, В.А. Черешнев, Г.Н. Чистякова // Способы, модели и алгоритмы модернизации науки в современных условиях: сборник статей Международной научно-практической конференции. (Омск, 25 марта 2020). Уфа, 2020. С. 121-124.

2. Патент РФ (11) 2 709 258 (13) С1: Способ ротоглоточного (орофарингеального) двукратного введения молозива недоношенным детям с экстремально низкой массой тела / Г.Н. Чистякова, К.П. Шакирова, И.И. Ремизова, Л.С. Устьянцева, С.В. Бычкова; Федеральная служба по интеллектуальной собственности; 17.12.2019. Бюллетень № 35. С. 1-13.

3. Применение технологии орофарингеального введения молозива недоношенным детей в условиях перинатального центра / К.П. Шамова, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, М.А. Боцьковская // Евразийский союз ученых: международный научно-исследовательский журнал. 2018. № 3 (48), ч. 1. С.71-73.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Улучшение качества жизни и состояния здоровья недоношенных являются одной из приоритетных задач отечественного и мирового здравоохранения. Одной из важнейших систем организма является иммунная система, которая регулирует поддержание постоянства его внутренней среды. Немаловажное влияние на регуляцию иммунных реакций недоношенных детей оказывает внедрение в практику выхаживания семейно-ориентированных технологий. Изучение метода орофарингеального введения молозива недоношенным детям позволит оценить его влияние на показатели иммунитета, микробную колонизацию, клиническое состояние, что и определило цель настоящего исследования – оценить особенности течения раннего постнатального периода и изменения иммунологических параметров у недоношенных детей при орофарингеальном введении молозива.

Для достижения поставленной цели и решения задач, проведена двухэтапная система исследования. На первом этапе проведено проспективное сравнительное когортное обследование 90 недоношенных детей, разделенных на группы согласно критериям деления преждевременно родившихся детей, разработанных ВОЗ [10]: 1-я группа – 28 детей, родившихся в сроке гестации 24-27 недель 6 дней включительно (дети от очень ранних или сверхранних преждевременных родов); 2-я группа – 29 детей, родившихся в сроке гестации 28-31 неделя 6 дней включительно (дети от ранних преждевременных родов); 3-я группа – группа сравнения, 33 ребенка, родившихся в сроке гестации 32-36 недель 6 дней включительно (дети от преждевременных и поздних преждевременных родов).

В связи с тем, что группа детей от сверхранних преждевременных родов к ПКВ 37-40 недель имеет наиболее тяжелые клинические исходы и в большей степени уязвима в отношении развития инфекционной патологии, на втором этапе проведено сравнительное рандомизированное исследование 39 недоношенных

детей с экстремально низкой массой тела, рожденных в сроке гестации 24-27 недель 6 дней включительно. Дети были поделены на группы в зависимости от применения орофарингеального введения молозива: 1-я группа – получающие орофарингеально молозиво (19 детей), 2-я группа – не получающие молозиво (20 детей).

В ходе проведенного исследования было выявлено, что беременность матерей протекала на фоне преэклампсии, хронической плацентарной недостаточности, нарушения маточно-плацентарного кровотока, маловодия. Длительный безводный промежуток и случаи хронической внутриматочной инфекции отмечались у женщин родоразрешенных в сроке сверхранных и ранних преждевременных родов. Полученные нами данные об осложненном течении периода гестации женщин с преждевременными родами согласуются с результатами более ранних исследований, проведенных в ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ, а также рядом зарубежных исследований [27, 46, 86, 148].

Более чем в 90% случаев, женщины 1-й и 2-й групп и 100 % матерей группы сравнения были родоразрешены оперативным путем в плановом порядке.

Респираторные нарушения занимают лидирующее место среди патологических состояний у недоношенных детей, которые развиваются на фоне анатомо-физиологических особенностей дыхательной системы вследствие преждевременного рождения [23]. В настоящем исследовании продемонстрировано, что основной патологией определяющей тяжесть состояния недоношенных детей явилось развитие РДС при рождении, который регистрировался в 100 % и 86,2 % случаев в 1-й и 2-й группах соответственно. Большинство новорожденных нуждались в проведении респираторной поддержки. Проведение ИВЛ и введение препаратов сурфактанта при рождении достоверно чаще требовалось новорожденным меньшего гестационного возраста (24-27 недель). Относительно предыдущих исследований, проведенных в ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ в период 2008-2013 гг. и 2014-2018 гг., в нашей диссертационной работе отмечается снижение частоты применения ИВЛ у детей от сверхранных преждевременных родов [27, 46].

К достижению постконцептуального возраста 37-40 недель у недоношенных детей сформировалась сочетанная патология различной степени тяжести. У новорожденных, родившихся в сроке сверхранних преждевременных родов достоверно чаще регистрировалась БЛД, что обусловлено наличием тяжелого РДС, большей продолжительностью проведения респираторной поддержки, морфо-функциональной незрелостью ткани легкого, низкой массой тела. Полученные нами результаты исследования согласуются с данными отечественных и зарубежных авторов [2, 27, 75, 109, 115].

Аналогично высокой частоте развития БЛД у глубоконедоношенных детей отмечалась наибольшая частота встречаемости ретинопатии. В основе патогенеза ретинопатии, также как и БЛД, лежит аномалия сосудов сетчатки, развивающаяся под влиянием различных факторов, в особенности негативное воздействие на данный процесс оказывает проведение мероприятий интенсивной терапии (длительная респираторная поддержка, проведение гемотрансфузий), а также инфекционно-воспалительные заболевания (НЭК, поздний сепсис) [82]. Ретинопатия III стадии диагностирована в 1-й группе у каждого пятого ребенка, II стадии у 75% детей. Во 2-й группе у большинства детей регистрировалась ретинопатия II стадии.

Незрелость сосудистой сети головного мозга, отсутствие ауторегуляции мозгового кровотока обуславливает развитие церебральной ишемии и геморрагических поражений ЦНС у недоношенных новорожденных [11, 38]. Согласно проведенным исследованиям, у детей 1-й группы на фоне перенесенной асфиксии достоверно чаще регистрировались тяжелые формы гипоксически-ишемического поражения ЦНС степени, дети 2-й группы наиболее часто встречались гипоксически-ишемическое поражения ЦНС средней степени. Пациенты 3-й группы (32-36 недель 6 дней включительно) имели легкие гипоксические поражения ЦНС. Внутрижелудочковые кровоизлияния диагностировались только у детей, родившихся в сроке 24-27 недель, при этом ВЖК I и II степеней регистрировались с частотой 21,4 %, тяжелые формы ВЖК отмечены в единичных случаях.

Кроме морфо-функциональных особенностей строения, на развитие ВЖК оказывает влияние дисфункциональное состояние системы гемостаза, жесткие параметры ИВЛ, наличие инфекционной внутриутробной патологии [1, 6, 135].

Для детей от сверхранних преждевременных родов характерно развитие лейкомаляции, характеризующейся появлением очагов колликативного некроза, захватывающих не только перивентрикулярные области, но и центральные и субкортикальные отделы больших полушарий головного мозга. Случаи развития лейкомаляций регистрировались в 1-й и 2-й группах, но чаще у детей от сверхранних преждевременных родов (75 % против 41,4 %, $p_{1-2}=0,01$).

Инфекционные заболевания достоверно чаще регистрировались у детей, родившихся в сроке гестации 24-27 недель. Развитие инфекции, перинатального периода, диагностировалось у 92,9 % и 44,8 % детей 1-й и 2-й групп соответственно. Диагностика инфекции, перинатального периода, осуществлялась на основании клинических данных и лабораторных изменений (лейкоцитоз, лейкопения, палочкоядерный сдвиг лейкоцитарной формулы, повышение уровня С-реактивного белка более 10 г/л в первые 72 часа жизни). Частота развития пневмонии у детей 1-й группы также была достоверно выше показателей 2-й группы. Поздний неонатальный сепсис в 1-й и 2-й группах диагностирован в единичных случаях.

Развитие анемии наблюдалось у большинства детей 1-й и 2-й групп. Тяжелые формы анемии, требующие дотации форменных элементов крови, чаще регистрировались у детей, родившихся в сроке гестации 24-27 недель.

Характер вскармливания недоношенных детей всех групп менялся в динамике периода наблюдения. Частота грудного вскармливания к ПКВ 37-40 недель сократилась в 2,4, 1,4, 1,1 раза в 1-й, 2-й и 3-й группах соответственно.

Общая продолжительность нахождения в условиях стационара, ОРИТН и антибактериальной терапии была наибольшей у детей от сверхранних преждевременных родов.

Формирование микробиоценоза кишечника и ее влияние на реализацию иммунных реакций активно изучается в настоящее время. Развитие микробной

флоры новорожденного представляет собой сложный многоэтапный процесс, и у каждого ребенка этот процесс индивидуален. На формирование микрофлоры влияет: материнский микробиоценоз, тип родоразрешения, характер вскармливания, применение семейно-ориентированных технологий. Немаловажное влияние на развитие микробиологии кишечника оказывает срок родоразрешения женщин, масса тела, наличие инфекционной патологии и проведение антибактериальной терапии у новорожденного [15, 68, 70, 77]. Микрофлора недоношенных детей, требующих нахождения в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии, отличается от здоровых новорожденных своим видовым составом и отсроченным ростом микрофлоры, с преобладанием энтеробактерий, коагулазонегативных стафилококков, энтерококков на фоне дефицита бифидофлоры [58, 152].

В результате проведенного исследования было установлено, что в конце первых суток жизни рост микрофлоры отмечался в единичных случаях у новорожденных 1-й и 2-й групп. По достижению раннего неонатального периода отсутствие роста кишечной микрофлоры детектировалось чаще у детей от сверхранних преждевременных родов относительно показателей 2-й и 3-й групп ($p_{1-2}=0,01$, $p_{1-3}<0,001$). Из выделенных микроорганизмов в 1-й группе наиболее часто встречались энтеробактерии с доминированием *K. pneumoniae* и *K. oxytoca* в диагностически значимых титрах (более 10^4 КОЕ/г), во 2-й группе грамположительные кокки в допустимых количествах, в группе сравнения энтеробактерии с преобладанием *E. coli* в нормальном титре 10^7 - 10^8 КОЕ/г).

В ПКВ 37-40 недель отмечен рост кишечной микрофлоры у 78,6 %, 100 % и 84,8 % детей 1-й, 2-й и 3-й групп соответственно. Во всех группах превалировали энтеробактерии, в 1-й группе доминировал рост *E. cloacae* в количестве 10^6 - 10^7 КОЕ/г, во 2-й группе - *K. oxytoca* и *K. pneumoniae* 10^6 - 10^7 КОЕ/г, (31 %), во 3-й группе - *E. coli* 10^6 - 10^7 КОЕ/г.

Неоспоримым является тот факт, что колонизация кишечника является иммунным процессом, обусловленным иммуногенными свойствами резидентной микрофлоры стимулирующий развитие лимфоидного аппарата кишечника и

мукозальный иммунитет, ключевым компонентом которого является секреторный IgA [140].

При исследовании копрофильтратов недоношенных детей было установлено статистически значимое снижение концентрации sIgA у детей со сроком гестации 24-27 недель в раннем неонатальном периоде и ПКВ 37-40 недель, что обусловило большую частоту инфекционной патологии в данной группе.

Система врожденного иммунитета в эмбриональный период является центральным механизмом защиты против различных антигенов и действует, основываясь на процессах воспаления и фагоцитоза, когда механизмы адаптивного иммунитета еще отсутствуют. Реализация иммунных реакций осуществляется посредством многих типов клеток, где основную роль играют моноциты, на поверхности которых экспрессируются ряд рецепторов, играющих различные функции (распознавание, представление и адгезию патогенов).

Анализируя результаты исследования, нами было установлено, что при рождении и в ПКВ 37-40 недель уровень экспрессии маркеров активации моноцитов в 1-й и 2-й группе, не отличался от показателей детей группы сравнения. Тем не менее, повышение степени колонизации условно-патогенной микрофлорой в динамике периода адаптации недоношенных детей, сопровождалось активацией моноцитарно-макрофагального звена иммунной системы. К ПКВ 37-40 недель у недоношенных детей 24-31 недели гестационного возраста регистрировалась повышенная экспрессия маркеров активации моноцитов, за исключением количества CD14+CD284+ клеток, содержание которых не изменилось. Необходимо отметить, что у детей 32-36 недель ГВ изменения в сторону возрастания отмечались для CD14+CD11c+ и CD14+HLA-DR+ моноцитов. Результаты работ, посвященные изучению врожденного иммунитета немногочисленны и противоречивы, и, как правило, касаются изучения одного показателя и только в конкретный временной промежуток, не охватывая динамику изменения на протяжении длительного периода. Кроме того, исследование не всегда основывается на оценке показателей в зависимости от

гестационного возраста, иногда экспрессия маркеров рассматривается в ключе наличия инфекционной патологии у недоношенных детей. Наши данные согласуются с результатами исследований Joerg C. Schefold, et al. (2015), которые описали отсутствие различий при оценке уровня экспрессии HLA-DR между доношенными и недоношенными детьми, и Чистяковой Г.Н. с соавт. где выявлено, отсутствие значимых различий в экспрессии TLR2 в пуповинной крови у недоношенных детей различного гестационного возраста [49, 141].

В отличие от полученных нами данных Сотникова Н.Ю. и соавт. (2014) демонстрируют сниженную экспрессию TLR2 и TLR4 у детей, родившихся в сроке гестации 22-28 недель по сравнению с детьми от поздних преждевременных родов [40].

Что касается фагоцитарной активности лейкоцитарных клеток, нами обнаружено сниженное количество нейтрофильных гранулоцитов в пуповинной крови у детей 24-31 недель ГВ. К ПКВ 37-40 недель у детей меньшего срока гестации сохранялась сниженная функциональная активность фагоцитов, у детей 28-31 недели ГВ – повышалась до значений группы сравнения. Сниженное на уровне тенденции относительное число моноцитов, способных к поглощению бактерий у детей от сверхранних и ранних преждевременных родов при рождении, достоверно повышалось к моменту выписки из стационара и не отличалось от аналогичных показателей детей 32-36 недель ГВ.

Работ, посвященных исследованию микробиоты кожи и дыхательных путей недоношенных детей крайне мало, однако эта тема открыта для научного поиска. Морфофункциональная незрелость естественных барьеров организма недоношенных детей в сочетании с многочисленными инвазивными манипуляциями, длительным пребыванием в условиях стационара обуславливает формирование микробиома кожи и слизистых оболочек верхних дыхательных путей [116]. Исследование микрофлоры верхних дыхательных путей при рождении показало, что рост микрофлоры в основных группах и группе сравнения регистрировался в единичных случаях. В работе Кондратенко Т.А. с соавт. (2014) были получены аналогичные результаты. У детей, находящихся в

ОРИТН, наблюдался скудный рост микрофлоры верхних дыхательных путей [19]. При микробиологическом анализе кожи заушной складки недоношенных детей, на 1-е сутки жизни, микрофлора выявлена в единичных случаях. Полученные нами данные согласуются с результатами исследования Rammi M., et al. (2017), где авторами продемонстрировано скудное микробное разнообразие кожи у недоношенных детей с ЭНМТ и ОНМТ при рождении [105]. Однако в раннем неонатальном периоде, микроорганизмы в этом локусе, регистрировались с наибольшей частотой. К достижению ПКВ 37-40 недель у большинства детей основных групп частота выделения микрофлоры увеличивалась во всех исследуемых биотопах с доминированием роста различных видов коагулазонегативных стафилококков, что отличается от данных Малыгиной О.Г. и соавт. (2014). При исследовании характера микрофлоры верхних дыхательных путей недоношенных детей с ЭНМТ, проходивших лечение в условиях ОРИТН авторами установлено, что к моменту выписки из стационара спектр микроорганизмов, населяющих верхние дыхательные пути, расширился, увеличилась доля грамотрицательных микроорганизмов, отмечались случаи выявления грибов рода *Candida* и зеленеющего стрептококка [20]. Однако результаты исследования Rammi M., et al. (2017), продемонстрировавшие преобладание на коже кокковой микрофлоры [105], были сопоставимы с нашими данными.

Микрофлора грудного молока может оказывать влияние на формирование микрофлоры и реализацию иммунных реакций недоношенных детей. В литературе сообщается, что микробиота грудного молока представлена чаще бифидобактериями, лактобактериями и коагулазонегативными стафилококками (*S. epidermidis*), но встречаются случаи выявления *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterococcus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Bacillus spp.* и *Moraxella spp.*, стрептококка группы В [69]. В ходе проведенного исследования было установлено, что в большинстве случаев пробы молозива в первые сутки после родов, были стерильны. В раннем неонатальном периоде и в ПКВ 37-40 недель, в

большинстве проб грудного молока обнаружено наличие *S. epidermidis*, который является нормальным представителем микрофлоры кожного покрова.

Грудное молоко насыщено иммунными защитными компонентами. К иммунным компонентам грудного молока относятся: хемокины, про- и противовоспалительные цитокины, факторы роста, лактоферрин, лизоцим, пре- и пробиотики, а главным образом секреторный иммуноглобулин А [143]. Зарубежные исследователи свидетельствуют о том, что грудное молоко женщин родивших раньше срока, содержит более высокие уровни иммунологических компонентов, в частности более высокую концентрацию sIgA, чем у женщин родивших в срок [99], что нашло подтверждение в настоящем исследовании; у женщин, родоразрешенных в сроке 24-27 недель и 28-31 неделя, уровень sIgA был значимо выше, чем у матерей группы сравнения.

В процессе проведения второго этапа настоящего исследования проведена оценка эффективности использования орофарингеального введения молозива у недоношенных детей гестационного возраста 24-27 недель 6 дней на показатели врожденного иммунного ответа, микробную колонизацию кишечника и клиническое состояние недоношенных детей.

Клиническая характеристика в группах детей, получающих и не получающих орофарингеальное введение молозива, не имела существенных различий, однако частота инфекционных заболеваний, у детей, получавших молозиво, диагностирована значительно реже (1-я группа). Кроме того, у детей которым применялась данная методика, не были зарегистрированы случаи сепсиса, неонатальная пневмония регистрировалась в 2,5 раза реже.

В группе детей, получавших орофарингеальное введение молозива в первые часы жизни, наблюдалась более быстрая коррекция транзиторной гипогликемии. Установлено снижение уровня С-реактивного протеина в первые сутки жизни, относительно показателей детей, не получавших молозиво.

Частота грудного вскармливания была сопоставима в обеих группах. Однако длительность парентерального питания была значительно короче у детей,

получающих молозиво. Новорожденные, в этой группе, быстрее набирали вес, и имели большую массу тела при выписке.

К завершению раннего неонатального периода характер микробной колонизации не отличался в обеих группах, рост микрофлоры детектировался практически у половины детей 1-й и 2-й группы. У 21 % новорожденных, получавших орофарингеальное введение молозива, детектировались грамотрицательные энтеробактерии, представленные микроорганизмами рода *Klebsiella* в диагностически значимых титрах, во 2-й группе доминировал рост грамположительных кокков.

Анализ исследования sIgA в копрофильтратах показал, что содержание данного иммуноглобулина у недоношенных новорожденных 1-й группы достоверно превышало аналогичные показатели детей 2-й группы.

При исследовании функциональной активности моноцитов в периферической крови в ПКВ 37-40 недель недоношенных детей, получавших и не получавших молозиво, установлено статистически значимое повышение CD14+CD64+, CD14+CD11b+, CD14+CD11c+ и CD14+HLA-DR+ популяций ($p < 0,05$). Уровень экспрессии активированных CD14+CD282+ и CD14+CD284+ клеток у детей, получавших молозиво, практически не изменился ($p > 0,05$), однако относительное число CD14+CD282+ клеток, у детей не получавших молозиво увеличилось в 2,1 раза. Необходимо отметить, что относительное содержание активированных моноцитов в этой группе детей, статистически значимо превышало показатели детей, получавших молозиво.

Аналогичная картина наблюдалась и при оценке лейкоцитарного фагоцитоза, где количество фагоцитирующих нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов в группе детей, не получавших молозиво, достоверно увеличивалось к ПКВ 37-40 недель, превышая показатели детей 1-й группы.

Более низкая функциональная активность моноцитов и способность к фагоцитозу у детей, получавших молозиво, возможно обусловлена низкими показателями инфекционной заболеваемости, по сравнению с детьми, которым не проводилось орофарингеальное введение молозива в первые часы жизни.

Полученные нами данные косвенно подтверждаются наличием отрицательных корреляционных взаимосвязей sIgA с госпитальной пневмонией, HLA-DR, CD14+CD64+ и фагоцитирующих моноцитов с неонатальной пневмонией, а также HLA-DR и фагоцитарной активностью моноцитов с инфекцией в перинатальном периоде (МКБ 10 P39.9).

Результаты, полученные на втором этапе исследования, посвященном у оценке эффективности применения метода орофарингеального введения молозива показали, что данная технология снижает риск реализации инфекционно-воспалительных заболеваний, способствует более быстрой коррекции транзиторной гипогликемии и сокращению длительности парентерального питания, позволяет добиться более высоких весовых показателей к моменту выписки.

У детей, получавших молозиво орофарингеально, отмечалось повышение уровня секреторного IgA в копрофильтратах. По мнению V. Vossi, et al. (1991), цитокины, сконцентрированные в молозиве, могут стимулировать преобразование В-лимфоцитов в плазматические клетки, которые усиливают синтез sIgA. Секреторный IgA, поглощаясь слизистой оболочкой ротовой полости, препятствует бактериальной колонизации, что подтверждается наличием секреторного IgA в копрофильтрате у новорожденных. Повышенная концентрация sIgA на локальном уровне, препятствует инвазии микроорганизмов в подслизистый слой, тем самым снижая риск развития воспалительных процессов и запуская каскад гуморального иммунного ответа [164].

У детей, не получавших молозиво, отмечается активация моноцитарно-макрофагального звена. Данный факт может быть обусловлен тем обстоятельством, что, активируясь, моноциты недоношенных детей, приобретают провоспалительную направленность, ввиду их взаимодействия условно-патогенной кишечной микрофлорой. Учитывая морфофункциональную незрелость кишечника, повышение экспрессии моноцитов приводит к развитию персистирующего воспалительного процесса. Иммунные компоненты, содержащиеся в молозиве (лактоферрин, sIgA и др.) ингибируют экспрессию

моноцитов, отвечающих за ликвидацию бактериальных патогенов, тем самым ориентируя моноциты в противовоспалительную направленность. Кроме того, иммунные факторы молозива стимулируют выработку трансформирующего фактора роста (TGF- β), способствуя репарации эпителия кишечника и препятствуя развитию феномена бактериальной транслокации [93, 98, 111].

ВЫВОДЫ

1. У всех недоношенных детей на фоне развития дыхательных и неврологических нарушений, инфекционно-воспалительных заболеваний, тяжелой анемии, ретинопатии наблюдается рост эпидемиологически значимых микроорганизмов: *E. coli* (более 10^7 КОЕ/г), *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. cloacae* (более 10^4 КОЕ/г).

2. Ранними информативными иммунологическими параметрами, позволяющими оценить риск реализации инфекционно-воспалительных заболеваний в неонатальном периоде у недоношенных детей являются фагоцитирующая способность нейтрофилов, содержание С-реактивного белка и уровень экспрессии CD14+CD282+.

3. Функциональная активность моноцитов крови у недоношенных детей, получавших молозиво орофарингеально, не изменяется в динамике периода наблюдения.

4. Повышенная продукция секреторного иммуноглобулина А определяемая в копрофильтратах на локальном уровне, регистрируется только у недоношенных детей, получавших молозиво орофарингеально.

5. У детей, получавших орофарингеальное введение молозива, наблюдается быстрая коррекция транзиторной гипогликемии, сокращение продолжительности парентерального питания, большая прибавка массы тела и снижение частоты инфекционных заболеваний в неонатальном периоде.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Недоношенным детям, родившимся в гестационном возрасте 24-27 недель, рекомендуется осуществлять орофарингеальное введение молозива после стабилизации состояния в условиях операционно-родового блока, с повторным введением не позднее первых шести часов жизни.

Проведение метода: манипуляцию проводит врач-неонатолог. После извлечения ребенка необходимо выполнить сцеживание молозива из груди матери. Предварительно обработать руки, надеть стерильные перчатки. Для сцеживания молозива можно использовать стерильный одноразовый пластиковый контейнер с крышкой. Молозиво следует вводить в оперативно-родовом блоке через 30-40 минут после рождения и стабилизации состояния новорожденного. Вводить 7 капель молозива с помощью пластиковой одноразовой стерильной Пастеровской пипетки вдоль слизистой правой и левой щеки по направлению к ротоглотке с каждой стороны в течение 2 минут. Повторить манипуляцию не позднее первых шести часов жизни новорожденного.

2. С целью оценки риска раннего прогнозирования неонатальной пневмонии у детей от сверхранних и ранних ПР (24-31 неделя 6 дней) проводить расчет прогностического индекса по формуле:

$$PI = 1,687 \times X_1 + 0,064 \times X_2 - 0,041 \times X_3 - 47,684 \quad [1]$$

где: X_1 – гестационный возраст ребенка, недели; X_2 – процентное содержание фагоцитирующих нейтрофильных гранулоцитов, %; X_3 – процентное содержание CD282+CD14+ моноцитов, %; 47,684 – Const. При PI более 0 прогнозируют низкий риск развития неонатальной пневмонии, а при PI менее 0 делают заключение о высоком риске развития этой патологии у недоношенных детей от сверхранних и ранних преждевременных родов.

Для раннего прогнозирования инфекций перинатального периода у детей, следует проводить вычисление прогностического индекса (PI) по формуле: $PI = 1,028 \times X_1 - 0,154 \times X_2 - 1,8 \times X_3 - 16,17$ [2]

где: X_1 – гестационный возраст ребенка, недели; X_2 – уровень С-реактивного белка, X_3 – шкала Апгар на 5 минуте жизни, баллы, 16,171 – Const. При PI более 0 прогнозируют низкий риск инфекций специфичных для перинатального периода, а при PI менее 0 делают заключение о высоком риске развития этой патологии у недоношенных детей от сверхранних и ранних преждевременных родов.

Прогнозирование риска развития инфекционной патологии в первые сутки жизни позволит подобрать наиболее рациональную тактику антибактериальной терапии у недоношенных детей, рожденных в сроке гестации 24-31 неделя 6 дней включительно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анурьев, А.М. Гипоксически – ишемические поражения головного мозга у недоношенных новорожденных / А.М. Анурьев, В.И. Горбачев // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2019. Т. 119, № 8. С. 63-69.
2. Архипова, М.Ю. Оценка состояния здоровья глубоконедоношенных детей / М.Ю. Архипова, С.Ю. Захарова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. Москва, 2016. № 1. С. 32-36.
3. Байбарина, Е.Н. Интенсивная терапия и принципы выхаживания детей с экстремально низкой и очень низкой массой тела при рождении: методическое письмо / Е.Н. Байбарина, Д. Н. Дегтярева, В. И. Широкова; под редакцией Е.Н. Байбариной. Москва, 2011. С. 7.
4. Бокерия, Е.Л. Открытый артериальный проток – «Добро и Зло в одном сосуде» / Е.Л. Бокерия, Е.А. Дегтярева // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2017. № 21 (2). С. 163-170.
5. Ведение новорожденных с респираторным дистресс синдромом: клинические рекомендации / под редакцией академика РАМН Н.Н. Володина. Москва, 2016. 48 с.
6. Володин, Н.Н. Внутрижелудочковые кровоизлияния, постгеморрагическая гидроцефалия у новорожденных детей. Принципы оказания медицинской помощи: методические рекомендации / Н.Н. Володин, С.К. Горелышева, В.Е. Попова; под редакцией академика РАМН Н.Н. Володина. Москва, 2014. С. 6.
7. Володин, Н.Н. Классификация перинатальных поражений нервной системы и их последствий у детей первого года жизни: методические рекомендации / Н.Н. Володин, А.С. Петрухина; под редакцией академика РАМН Н.Н. Володина. Москва: ФГОУ «ВУНМЦ Росздрава», 2005. 88с.
8. Володин, Н.Н. Неонатология: национальное руководство / под редакцией Н. Н. Володина. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 848 с.

9. Воронов, И.А. Нейросонографическое определение перивентрикулярной лейкомаляции как фактора раннего прогнозирования развития детского церебрального паралича / И.А. Воронов, Е.Д. Воронова // Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2001. № 1. С. 49-52.

10. Всемирная организация здравоохранения. Рожденные слишком рано: доклад о глобальных действиях в отношении преждевременных родов / Всемирная организация здравоохранения. 2012. С.1.

11. Глухов, Б.М. Этиопатогенетические характеристики внутрижелудочковых кровоизлияний в структуре перинатальных поражений мозга: обзор литературы и результаты собственных исследований / Б.М. Глухов, Ш.А. Булекбаева, А.К. Байдарбекова // Журнал детской неврологии. 2017. Т.12, № 2. С. 21-33.

12. Гришина, Т.И. Иммунологические нарушения, способствующие возникновению оппортунистических инфекций: методические рекомендации / Т.И. Гришина, Л.Г. Кузьменко. Москва, 2010. 23 с.

13. Губарева Г.Н. Пневмонии новорожденных. Сепсис новорожденных: методическая разработка / Г.Н. Губарева, О.С. Кириенко; ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава Российской Федерации. Ставрополь, 2015. С. 25.

14. Забарина, Н.А. Факторы риска развития внутрижелудочковых кровоизлияний у доношенных и недоношенных новорожденных / Н.А. Забарина // Вопросы современной педиатрии. 2008. Т.3, № 5. С. 4-23.

15. Захарова, С.Ю. Клинико-иммунологические особенности состояния здоровья детей раннего возраста, перенесших инфекционно-воспалительные заболевания в периоде новорожденности, и их реабилитация: автореферат дис. ... доктора медицинских наук; специальность – 14.01.08 / Светлана Юрьевна Захарова. Екатеринбург, 1998. С. 4-46.

16. Инвазивный кандидоз у новорожденных: клинические рекомендации / Минздрав России. Москва, 2017. 34 с.

17. К вопросу о родоразрешении беременных с рубцом на матке // С.В. Баринов, А.В. Биндюк, В.В. Ралко, [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. 2015. Т. 15, № 4. С. 29–33.
18. Кирилочев, О.К. Шкале Апгар 60 лет / О.К. Кирилочев // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2012. № 2. С. 9 – 11.
19. Кондратенко, Т.А. Микробиологический мониторинг микробиоценоза верхних дыхательных путей у новорожденных и недоношенных в отделении реанимации и интенсивной терапии и роль пробиотиков в его формировании / Т.А. Кондратенко, А.В. Шеожева // Эпидемиология: медицинский альманах. 2017. Т 4, № 49. С. 70-72.
20. Малыгина, О.Г. Формирование микробиоценоза ротоглотки у недоношенных детей с низкой и экстремально низкой массой тела при рождении в условиях детского стационара экология человека / О.Г. Малыгина, Т.А. Бажукова, Г.В. Симонова // Экология человека. 2014. № 12. С. 9-14.
21. Местный иммунитет и микрофлора кишечника при сальмонеллезном бактерионосительстве и подходы к его санации / И.Н. Чайникова, А.И. Смолягин, М.В. Скачков, [и др.] // Медицинская иммунология. 2008. Т. 10, №1. С.35-42.
22. Местный цитокиновый статус у беременных с дисбактериозом кишечника / Н. Гапон, В.Я. Зарубинский, [и др.] // Medicus. 2016. №6(12). С.58-61.
23. Овсянников, Д.Ю. Клиническая патофизиология органов дыхания недоношенных детей / Д.Ю. Овсянников, Д.А. Кравчук, Д.Ю. Николаева // Неонатология: новости, мнения, обучение. 2018. Т. 6, № 3. С. 74–98.
24. Овсянников, Д.Ю. Молекулярно-генетические механизмы развития бронхолегочной дисплазии / Д.Ю. Овсянников, Л.М. Огородова // Неонатология: новости, мнения, обучение. 2015. № 3. С. 50-68.
25. Оппортунистические инфекции: клинико-эпидемиологические аспекты: руководство по медицинской микробиологии / А.С. Лабинская, [и др.] // под редакцией А.С. Лабинской, Е.Г. Волиной, Е.П. Ковалевой. – Москва: Изд-во «Бином», 2014. 880 с.

26. Организационные принципы выхаживания и катамнез детей, родившихся в сроках экстремально ранних преждевременных родов в перинатальном центре / Н.В. Башмакова, А.М. Литвинова, Г.Б. Мальгина, [и др.] // Акушерство и гинекология: новости, мнение, обучение. 2015. № 1. С.12-16.

27. Особенности врожденного и адаптивного иммунитета недоношенных детей с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы / Л.С. Устьянцева, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2017. Т.32, №3. С.59-65.

28. Открытый артериальный проток у недоношенных детей /А.А. Буров, Д.Н. Дегтярев, О.В. Ионов, [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. 2016. № 4(14). С. 120-128.

29. Пальчик, А.Б. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных: руководство для врачей / А.Б. Пальчик, Н.П. Шабалов // Санкт-Петербург: Изд-во «Питер», 2000. С. 9-42.

30. Парентеральное питание новорожденных: клинические рекомендации / под редакцией академика РАМН Н.Н. Володина. Москва, 2015. 32 с.

31. Петрова, А.С. Эффективность современных принципов реанимационной и интенсивной помощи недоношенным с экстремально низкой и очень низкой массой тела / А.С. Петрова, Н.И. Захарова, М.В. Нароган // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2012. № 1. С. 25–28.

32. Программа оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации: методические рекомендации / А.А. Баранов, В.А. Тутельян, О.В. Чумакова, [и др.]. Москва, 2014. С. 20.

33. Программа оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации: методические рекомендации / ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Москва, 2019. 112 с.

34. Протокол антибактериальной терапии в неонатальных отделениях ФГБУ НИИ ОММ: клинический протокол / ФГБУ НИИ ОММ МЗ РФ. Екатеринбург, 2015. 14 с.

35. Роль и биологическое значение толл-подобных рецепторов в антиинфекционной резистентности организма / А.Л. Байракова, Е.А. Воропаева, С.С. Афанасьева, [и др.] // Вестник РАМН. 2008. № 1. С. 45 – 55.
36. Роль метода ПЦР в диагностике врожденных и нозокомиальных инфекций у новорожденных / О.И. Ионов, И.В. Никитина, О.В. Бурменская, [и др.] // Акушерство и гинекология. 2013. № 11. С. 59-63.
37. Самсыгина, Г.А. О предрасполагающих факторах и факторах риска развития неонатального сепсиса и о современных подходах его лечения / Г.А. Самсыгина // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2012. Т.91, №3. С. 32-37.
38. Сидельникова, В.М. Преждевременные роды. Недоношенный ребенок: руководство для врачей - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2006. С. 10-445.
39. Система реабилитации лактационной функции у женщин после сверхранних преждевременных родов / К.А. Шафиева, Г.Б. Мальгина, Л.А. Пестряева, [и др.] // Акушерство и гинекология. 2018. № 8. С.122-128.
40. Сотникова, Н.Ю. Экспрессия паттерн-распознающих рецепторов (PRR) моноцитами и нейтрофилами недоношенных новорожденных различных сроков гестации / Н.Ю. Сотникова, А.В. Кудряшова, Т.В. Чаша, А.В. Турова // Современные проблемы науки и образования: URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=16662>. 2014. №6. Текст электронный.
41. Увеличение уровня асимметричного диметиларгинина в плазме крови у новорожденных с бронхолегочной дисплазией, осложненной легочной гипертензией / Д.К. Триттман, Э. Петерсон, Л.К. Роджерс, [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. 2015. Т.9. № 3. С.37-43.
42. Уровень цитокинов в копрофильтратах больных реактивным артритом в зависимости от степени дисбиоза кишечника / Е.И. Данилова, О.Е. Челпаченко, И.Н. Чайникова, [и др.] // Российский иммунологический журнал. 2019. 22 (2-1). С. 224-226.
43. Федеральная служба государственной статистики: URL: <https://www.gks.ru/> (дата обращения: 13.10.2019 г.). Текст электронный.

44. Хирургическая коррекция открытого артериального протока у детей / А.Ю. Разумовский, А.Б. Алхасов, З.Б. Митупов, [и др.] // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. 2017. Т. 7, № 3. С. 24 – 32.
45. Царегородцев, А.Д. Персистирующие инфекции в педиатрии: современный взгляд на проблему / А.Д. Царегородцев, Е.А. Ружицкая, Л.Б. Кистенева // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2017. Т.62, №1. С. 5–9.
46. Чарипова, Б.Т. Клинико–иммунологические особенности и характер микробной колонизации у детей с экстремально низкой массой тела: автореферат диссертации...кандидата медицинских наук: специальности - 14.01.08, 14.03.09 / Бибигуль Толегеновна Чарипова. Екатеринбург, 2013. 26 с.
47. Черешнев, В.А. Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления / В.А. Черешнев, Е.Ю. Гусев // Медицинская иммунология. 2012. Т. 14, № 1-2. С. 9-20.
48. Черешнев, В.А. Иммунологические механизмы локального воспаления / В.А. Черешнев, М.В. Черешнева // Медицинская иммунология. – 2011.Т. 13, № 6. С. 557-568.
49. Чистякова, Г.Н. Фенотипическая и функциональная характеристики клеток врожденного и адаптивного иммунитета новорожденных различного гестационного возраста / Г.Н. Чистякова, И.М. Ремизова, В.А. Ляпунов, Л.С. Устьянцева // Клиническая лабораторная диагностика. 2017. Т.62, №5. С. 286-290.
50. Шабалов, Н.П. Асфиксия новорожденных. Москва: «Медпресс-информ», 2003. 123 с.
51. Шах, П.Г. Ретинопатия недоношенных: прошлое, настоящее, будущее / П.Г. Шах, В. Прабху, С.С. Карандикар // Неонатология: новости, мнения, обучение. 2017. Т.16, № 2. С. 20-33.
52. Экспрессия Fc-gamma рецепторов нейтрофилов у недоношенных детей различного гестационного возраста / В.Е. Мухин, Д.А. Праулова, Л.Л. Панкратьева, [и др.] // Вопросы современной педиатрии. 2016. Т. 15, №3. С. 273–278.

53. A pilot study to determine the safety and feasibility of oropharyngeal administration of own mother's colostrum to extremely low-birth-weight infants / N.A. Rodriguez, [et al.] // *Adv. Neonatal. Care.* 2010. Vol. 10(4). P. 206-212.
54. A retrospective analysis of the effect of human milk on prevention of necrotizing enterocolitis and postnatal growth / R. Chowning, [et al.] // *Journal of Perinatology* – 2016. – Vol. 36. – P. 221-224.
55. Adams, M. Practice variations and rates of late onset sepsis and necrotizing enterocolitis in very preterm born infants, a review / M. Adams, [et al.] // *Translational Pediatrics.* 2019. Vol. 8. №3. P. 212-226.
56. Adaptive immune regulation in the gut: T cell-dependent and T cell-independent IgA synthesis / S. Fagarasan, [et al.] // *Annu. Rev. Immunol.* 2010. Vol. 28. P. 243–273.
57. American Thoracic Society. Statement on the care of the child with chronic lung disease of infancy and childhood / J. Allen, [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003. Vol. 168. P. 356-396.
58. Association between duration of intravenous antibiotic administration and early-life microbiota development in late-preterm infants / R.D. Zwittink, [et al.] // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2018. Vol. 37(3). P. 475-483.
59. Blocking NF- κ B Activation in Ly6c (+) Monocytes Attenuates Necrotizing Enterocolitis / E. Managlia, [et al.] // *Am J. Pathol.* 2019. Vol. 189(3). P. 604-618.
60. Blood Culture Proven Early Onset Sepsis and Late Onset Sepsis in Very-Low-Birth-Weight Infants in Korea / S.M. Lee, [et al.] // *J. Korean Med. Sci.* 2015. Vol. 30. P. 67-74.
61. Brandtzaeg, P. The secretory immunoglobulin system: Regulation and biological significance. Focusing on human mammary glands / P. Brandtzaeg // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2002. Vol. 503. P. 1–16.
62. Bronchopulmonary dysplasia: changes in pathogenesis, epidemiology, and definition / E. Bancalari, [et al.] // *Semin. Neonatol.* 2003. Vol. 8. P. 63-71.
63. Changes in preterm breast milk nutrient content in the first month / Y.C. Hsu, [et al.] // *Pediatr. Neonatol.* 2014. Vol. 55. P. 449–454.

64. Characteristics of 'sawtooth shunt' following anti-vascular endothelial growth factor for aggressive posterior retinopathy of prematurity / T.R. Padhi, [et al.] // *Int. Ophthalmol.*: URL: doi: 10.1007/s10792-019-01269-4. PubMed PMID: 31925658. 2020. Текст электронный.
65. CHILD Study Investigators. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months / M.B. Azad, [et al.] // *Canadian Medical Association Journal*. 2013. Vol. 185, № 5. P. 385–394.
66. Claud, E. C. Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis / E. C. Claud, W. A. Walker // *Journal The Faseb*. 2001. Vol. 15. P. 1398–1403.
67. Colostrum as oral immune therapy to promote neonatal health / S.M. Gephart, [et al.] // *Adv. Neonatal. Care*. 2014. Vol. 14, №1. P. 44–51
68. Comparison of Mortality and Morbidity of Very Low Birth Weight Infants Between Canada and Japan / T. Isayama, [et al.] // *Pediatrics*. 2012. Vol. 130. P. 957-965.
69. Comparison of the risk of microbiological contamination between samples of breast milk obtained at home and at a healthcare facility / V.V. Serra, [et al.] // *Arch. Argent. Pediatr*. 2013. Vol. 111. P.115–119.
70. Coşkun, D. The effects of kangaroo care applied by Turkish mothers who have premature babies and cannot breastfeed on their stress levels and amount of milk production / D. Coşkun, U. Günay // *Journal of Pediatrics Nursing*. 2019. Vol. 45. P. 51-56.
71. Cytokine Secretion in Acute Shigellosis Is Correlated to Disease Activity and Directed More to Stool than to Plasma / R. Raqib, [et al.] // *The Journal of Infectious Diseases*. 1995. Vol. 171, No. 2. P. 376-384.
72. Denning, P. W. Necrotizing enterocolitis: hope on the horizon / P. W. Denning., A. Maheshwari // *Clinics in Perinatology*. 2013. Vol. 40, № 1. XVII–XIX.
73. Development of the pulmonary surfactant system / S. Orgeig, [et al.] // *The Lung: Development, Aging and the Enviroment*. 1st ed. Elsevier Academic Press. 2004. P. 149–167.

74. Distinguishing Arterial Ischemic Stroke From Hypoxic-Ischemic Encephalopathy in the Neonate at Birth / R.R. Adami, [et al.] // *Obstetrics and Gynecology*. 2016. Vol. 128, №4. P. 704-712.
75. Donda, K. Trends in epidemiology and outcomes of respiratory distress syndrome in the United States / K. Donda // *Pediatr. Pulmonol.* 2019. Vol. 54, № 4. P. 405-414.
76. Donor human milk for preterm infants: current evidence and research directions / S. Arslanoglu, [et al.] // *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2013. Vol. 57, №4. P. 535-542.
77. Early provision of oropharyngeal colostrum leads to sustained breast milk feedings in preterm infants / R. Snyder, [et al.] // *Pediatr. Neonatol.* 2017. Vol.58(6). P. 534-540.
78. Early-onset neonatal sepsis / K.A. Simonsen, [et al.] // *Clin. Microbiol. Rev.* 2014. Vol. 27(1). P. 21–47.
79. Edwards, M.S. Preventing the broad spectrum of perinatal morbidity and mortality through group B streptococcal vaccination / M.S. Edwards, B. Gonik // *Vaccine*. 2013. Vol. 31 (Suppl 4). P. 66-71.
80. Effect of intrauterine infection on brain development and injury / J. Zhao, [et al.] // *Int. J. Dev. Neurosci.* 2013. Vol. 31(7). P. 543–549.
81. Evaluation of the New Centers for Disease Control and Prevention Ventilator-Associated Event Module and Criteria in Critically Ill Children in Greece / E. Iosifidis, [et al.] // *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2016. Vol. 37(10). P. 1162–1166.
82. Extreme prematurity, treated retinopathy, bronchopulmonary dysplasia and cerebral palsy are significant risk factors for ophthalmological abnormalities at 6.5 years of age / A. Hellström, [et al.] // *Acta Paediatr.* 2018. Vol. 107(5). P. 811-821.
83. Facilitating Early Breast Milk Expression in Mothers of Very Low Birth Weight Infants / L.A. Parker, [et al.] // *MCN Am J. Matern Child Nurs.* 2018. 43(2). P. 105-110.

84. Faecal bifidobacteria in Indian neonates; the effect of asymptomatic rotavirus infection during the first month of life / R. Balamurugan, [et al.] // *Indian J. Med. Res.* 2010. Vol. 132. P. 721–727.
85. Fenton, T. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants / T. A. Fenton, J. Kim // *BMC Pediatr.* 2013. Vol. 13. P. 59.
86. Frey, H.A. The epidemiology, etiology, and costs of preterm birth / H.A. Frey, M.A. Klebanoff // *Semin. Fetal. Neonatal. Med.* 2016. Vol. 21, № 2. P. 68-73.
87. Gebremedhin, D. Risk factors for neonatal sepsis in public hospitals of Mekelle City, North Ethiopia. Unmatched Case Control Study / D. Gebremedhin // *Plos one*: URL: doi: 10.3389/fped.2019.00476. 2016. Текст электронный.
88. Gilbert, C. Retinopathy of prematurity: a global perspective of the epidemics, population of babies at risk and implications for control / C. Gilbert // *Early Hum. Dev.* 2008. Vol. 84. P. 77-82.
89. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000 / L. Liu, [et al.] // *Lancet.* 2012. Vol. 379 (9832). P. 2151– 2161.
90. Global, regional, and national levels and trends in under-5 mortality between 1990 and 2015, with scenario-based projections to 2030: a systematic analysis by the UN Inter-agency Group for Child Mortality Estimation / D. You, [et al.] // *Lancet.* 2015. Vol. 386. P. 2275–2286.
91. Grisaru-Granovsky, S. Population-based trends in mortality and neonatal morbidities among singleton, very preterm, very low birth weight infants over 16 years / S. Grisaru-Granovsky // *Early. Hum. Dev.* 2014. Vol. 90(12). P.821-827.
92. Growing up with lung disease: the lung in transition to adulthood / A. Bush, [et al.] // *Eur. Respir. Monogr.* 2002. Vol. 7. P. 1–24.
93. Gut bacteria dysbiosis and necrotising enterocolitis in very low birthweight infants: a prospective case-control study / B.B. Warner, [et al.] // *Lancet.* 2016. Vol. 387. P. 1928-1936.

94. Hackam, D. Necrotizing enterocolitis: Pathophysiology from a historical context / D. Hackam, M. Caplan // *Semin. Pediatr. Surg.* 2018. Vol. 27(1). P. 11-18
95. Heimbeck, I. Standardized single-platform assay for human monocyte subpopulations: lower CD14⁺ CD16⁺⁺ monocytes in females / I. Heimbeck // *Cytometry. Pt A.* 2010; 77A: P. 823–30.
96. Hijdra, D. Differential expression of TNFR1 (CD120a) and TNFR2 (CD120b) on subpopulations of human monocytes / D. Hijdra // *J. Inflamm.* 2012. 9 (1). P. 38.
97. Horbar, J.D. Variation in Performance of Neonatal Intensive Care Units in the United States / J.D. Horbar // *JAMA Pediatr.* 2017. Vol. 171. P. 164 – 396.
98. Human lactoferrin attenuates the proinflammatory response of neonatal monocyte-derived macrophages / L. Wisgrill, [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* 2018. Vol. 192(3). P. 315-324.
99. Human milk is the only milk for premies in the NICU! / A.F. Ahrabi, [et al.] // *Early Human Development*, 89 (Suppl. 2). 2013. S51–S53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2013.08.006>.
100. IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis / D.A. Peterson, [et al.] // *Cell Host Microbe.* 2007. Vol. 2. P. 328–339.
101. Immaturity of infection control in preterm and term newborns is associated with impaired toll-like receptor signaling / K. Sadeghi, [et al.] // *J. Infect. Dis.* 2007. Vol.195(2). P. 296 –302.
102. Immunology IV // J.A. Bellanti, [et al.] / *Clinical Application in Health and Disease.* Washington, 2012. P. 1063.
103. Improving survival of infants with low birthweight cared for outside hospitals / N. Charpak, [et al.] // *The Lancet.* 2019. Vol. 394 (102110). P. 1688-1690.
104. Improving the quality of care for infants: a cluster randomized controlled trial / S.K. Lee, [et al.] // *CMAJ.* 2009. Vol. 181. P. 469-476.
105. Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis / M. Pammi, [et al.] // *Microbiome:* URL: <https://doi.org/10.1186/s10020-018-0002-0-2018>. Текст электронный.

106. Intestinal microbiota development in preterm neonates and effect of perinatal antibiotics / S. Arboleya, [et al.] // *Journal of Pediatrics*. 2015. 166(3). 538544. doi:10.1016/j.jpeds.2014.09.041.
107. Intraventricular hemorrhage in premature infants: mechanism of disease / P. Ballabh, [et al.] // *Pediatr. Res*. 2010. Vol. 67. P. 1–8.
108. Ismaeil, T. Survival of mechanically ventilated patients admitted to intensive care units. Results from a tertiary care center between 2016-2018 / T. Ismaeil // *Saudi Med. J*. 2019. Vol. 40(8). P. 781-788.
109. Jensen, E.A. Epidemiology of bronchopulmonary dysplasia / E.A. Jensen, B. Schmidt // *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*. 2014. Vol. 100. P. 145–157.
110. Jobe, A.H. Bronchopulmonary dysplasia / Jobe A.H., E. Bancalari // *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2001. Vol. 163. P. 1723-1729.
111. Lactoferrin and necrotizing enterocolitis / M. P. Sherman, [et al.] // *Clinics in perinatology*. 2013. Vol. 40. P. 79-91.
112. Lee, J. Oropharyngeal colostrum administration in extremely premature infants: an RCT / J. Lee [et al.] // *Pediatrics*. 2015. Vol. 135(2). P. 357-366.
113. Longer duration of kangaroo care improves neurobehavioral performance and feeding in preterm infants: a randomized controlled trial / R.A. El-Farrash, [et al.] // *Pediatr. Res*. 2019. Vol. 87. P. 683 – 688.
114. Maheshwari, A. Cytokines associated with necrotizing enterocolitis in extremely-low-birth-weight infants / A. Maheshwari, [et al.] // *Pediatr. Res*. 2014. Vol. 76. 100–108.
115. Mechanical Ventilation in Neonatal Respiratory Distress Syndrome at High Altitude: A Retrospective Study From Tibet / D. Chen, [et al.] // *Frontiers in Pediatrics*: URL: <https://doi.10.3389/fped.2019.00476>; PubMed PMID: 31803698; PubMed Central PMCID: PMC6877749. 2019. 7: 476. Текст электронный.
116. Microbes in the neonatal intensive care unit resemble those found in the gut of premature infants / B. Brooks, [et al.] // *Microbiome*: URL: <https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-1> PMID: 24468033. 2014. Текст электронный.

117. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function / T. Olszak, [et al.] // *Cience*. 2012. Vol. 336(6080). P. 489-493.
118. Microbiology and management of neonatal necrotizing enterocolitis / I. Brook, [et al.] // *Am J. Perinatol.* 2008. Vol. 25 P.111–118.
119. Modulation of immune development and function by intestinal microbiota / A.M. Kabat, [et al.] // *Trends Immunol.* 2014. Vol. 35. P. 507–517.
120. Montagne, P. Immunological and nutritional composition of human milk in relation to prematurity and mother's parity during the first 2 weeks of lactation / P. Montagne, [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1999. Vol. 29(1). P. 75–80.
121. Moro, M. Pre-discharge Morbidities in Extremely and Very Low-Birth-Weight Infants in Spanish Neonatal Units / M. Moro, [et al.] // *Am J. Perinatol.* 2009. Vol. 26. P. 335-343.
122. Nagelkerke, S. Immunomodulation by IVIg and the role of Fc gamma receptors: classic mechanisms of action after all? / S. Nagelkerke, T. Kuijpers // *Frontiers in Pediatrics*: URL: doi: 10.3389/fimmu.2014.00674. 2015. Текст электронный.
123. Neonatal outcomes of extremely preterm infants. From the NICHD Neonatal / B. Stoll, [et al.] // *Research Network. Pediatr.* 2010. 126: 443–456. doi: 10.1542/peds.2009-2959. - DOI - PMC – PubMed.
124. Neurodevelopmental outcomes at 4 to 8 years of children born at 22 to 25 weeks' gestational age. A Meta-analysis/ G.P.Moore, [et al.] // *JAMA Pediatrics.* - 2013. Vol. 167. № 10. P. 967-974.
125. New insights into the pathogenesis and treatment of necrotizing enterocolitis: Toll-like receptors and beyond / A. Afrazi, [et al.] // *Pediatric Research.* 2011. № 69. P. 183–188.
126. Ophthalmic Manifestations in Children with Periventricular Leukomalacia / S. Ganesh, [et al.] // *Indian J. Pediatr.* URL: doi: 10.1007/s12098-018-2643-y. 2018. Текст электронный.

127. Oropharyngeal Administration of Colostrum Increases Salivary Secretory IgA Levels in Very Low-Birth-Weight Infants / K.M. Glass, [et al.] // *Am J. Perinatol.* 2017. Vol. 34, № 14. P.1389-1395.
128. Oropharyngeal administration of colostrum to extremely low birth weight infants: theoretical perspectives / N.A. Rodriguez, [et al.] // *J. Perinatol.* 2009. Vol. 29(01). P. 1–7.
129. Oropharyngeal Administration of Mother's Milk Prior to Gavage Feeding in Preterm Infants: A Pilot Randomized Control Trial / M. Abd-Elgawad, [et al.] // *JPEN Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.* 2019. Vol. 44, №1. P. 99-104.
130. Outcome comparison of very preterm infants cared for in the neonatal intensive care units in Australia and New Zealand and in Canada / S. Hossain, [et al.] // *Paediatr. Child Health.* 2015. Vol. 51. P. 881-888.
131. Population based trends in mortality, morbidity and treatment for very preterm- and very low birth weight infants over 12 years / C. Rüegger, [et al.] // *BMC Pediatr.* URL: DOI: 10.1186/1471-2431-12-17.- 2012. Текст электронный.
132. Potential NICU environmental influences on the neonate's microbiome / L.E. Hartz, [et al.] // A systematic review. *Advances in Neonatal Care.* 2015. Vol.15(5). P. 324-335.
133. Potential role of the detection of enterobacterial DNA in blood for the management of neonatal necrotizing enterocolitis / N. Mancini, [et al.] // *J. Med. Microbiol.* 2012. Vol. 61. 1465–1472.
134. Predictors of bronchopulmonary dysplasia or death in premature infants with a patent ductus arteriosus / V. Chock, [et al.] // *Pediatric Research.* 2014. Vol. 75, № 4. P. 570-575.
135. Preterm brain injury: Germinal matrix-intraventricular hemorrhage and post-hemorrhagic ventricular dilatation / L.M. Leijser, [et al.] // *Handb. Clin. Neurol.* 2019. Vol. 162. P. 173-199.
136. Reduced TNF- α response in preterm neonates is associated with impaired nonclassic monocyte function / L. Wisgrill, [et al.] // *J. Leukoc. Biol.* 2016. Vol. 100(3). P. 607-612.

137. Retinopathy of Prematurity / A.L. Bashinsky, [et al.] // NCMed J. 2017. Vol. 78, № 2. P. 124-128.
138. Rodriguez, N.A Oropharyngeal administration of mother's colostrum, health outcomes of premature infants: study protocol for a randomized controlled trial / N.A. Rodriguez, [et al.] // Trials: URL: doi: 10.1186/s13063-015-0969-6. 2015. Текст электронный.
139. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease / N. Kamada, [et al.] // Nature Rev. Immunol. 2013. Vol. 13. P. 321–335.
140. Ronayne de Ferrer P.A. Lactoferrin levels in term and preterm milk / P.A. Ronayne de Ferrer // J. Am Coll. Nutr. 2000. Vol. 19(3). P. 370–373.
141. Schefold, J.C. Diminished HLA-DR expression on monocyte and dendritic cell subsets indicating impairment of cellular immunity in pre-term neonates: a prospective observational analysis / J.C. Schefold // J. Perinat. Med. 2015. Vol. 43(5). P. 609-618.
142. Sepsis as a risk factor for neonatal morbidity in extremely preterm infants Acta / A. Ohlin, [et al.] // Paediatr. 2015. Vol. 104. P. 1070-1076.
143. Sharma, R. A clinical perspective of necrotizing enterocolitis: Past, present, and future / R. Sharma, M. L. Hudak // Clinics in Perinatology. 2013. Vol. 40. P. 27–51.
144. Soll, R. Prophylactic protein free synthetic surfactant for preventing morbidity and mortality in preterm infants / R. Soll, E. Özek E // Cochrane Database Syst. Rev.: URL: <https://doi.org/10.1002/14651858>. 2010. Текст электронный.
145. Survival and Morbidity of Preterm Children Born at 22 Through 34 Weeks' Gestation in France in 2011: Results of the EPIPAGE-2 Cohort Study / P. Y. Ancel, [et al.] // JAMA Pediatrics. 2015. Vol. 169, № 3. P. 230-238.
146. Sustained quality improvement in outcomes of preterm neonates with a gestational age less than 29 weeks: results from the Evidence-based Practice for Improving Quality Phase / P.S. Shah, [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. 2019. Vol. 97. P. 213-221.

147. TGF-beta2 suppresses macrophage cytokine production and mucosal inflammatory responses in the developing intestine / A. Maheshwari, [et al.] // *Gastroenterology*. 2011. Vol. 140. P. 242-253.

148. The analysis of etiology and risk factors for 192 cases of neonatal sepsis / T. Xiao, [et al.] // *Biomed. Res. Int.*: URL: doi: 10.1155/2017/86170762017. 2017. Текст электронный.

149. The infant microbiome: Implications for infant health and neurocognitive development / I. Yang, [et al.] // *Nursing Research*. 2016. Vol. 65(1). P. 76-88.

150. The mechanism of excessive intestinal inflammation in necrotizing enterocolitis: an immature innate immune response // N. Nanthakumar, [et al.] // *Plos one*: URL: DOI:10.1371/journal.pone.0017776. 2011. Текст электронный.

151. The Microbiome and Metabolome of Preterm Infant Stool Are Personalized and Not Driven by Health Outcomes, Including Necrotizing Enterocolitis and Late-Onset Sepsis / S. Wandro, [et al.] // *mSphere*: URL: doi: 10.1128/mSphere.00104-18. 2018. Текст электронный.

152. The microbiota regulates neutrophil homeostasis and host resistance to *Escherichia coli* K1 sepsis in neonatal mice / H.S. Deshmukh, [et al.] *Nat. Med.* 2014. Vol. 20. P. 524–530.

153. The premature infant gut microbiome during the first 6 weeks of life differs based on gestational maturity at birth / D.A. Chernikova, [et al.] // *Pediatric Research*. 2018. Vol. 84, №1. P. 71-79.

154. The role of PAF, TLR, and the inflammatory response in neonatal necrotizing enterocolitis / M.S. Caplan, [et al.] // *Semin. Pediatr. Surg.* 2005. Vol.14. P. 145–151.

155. The Vulnerable Newborn Brain: Imaging Patterns of Acquired Perinatal Injury / D.M. Ferriero, [et al.] // *Neonatology*. 2016. Vol. 109, № 4. P. 345 - 351.

156. Toll-like receptor regulation of intestinal development and inflammation in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis / P. Lu, [et al.] // *Pathophysiology*. 2014. Vol. 21. P. 81–93.

157. Transcatheter closure of hemodynamically significant patent ductus arteriosus in 32 preterm infants using AMPLATZER occluder system size ADOIIAS / P. Morville, [et al.] // *Cardiovasc. Interv.* 2017. Vol. 62(7). P. 245–251.
158. Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993-2012 / B. J. Stoll, [et al.] // *JAMA.* 2015. Vol. 314. P. 1039-1051.
159. UNICEF. Capture the Moment – Early initiation of breastfeeding: The best start for every newborn / UNICEF, WHO. New York: UNICEF; 2018. P. 3-41.
160. UNICEF. Levels and trends in child mortality / UNICEF, WHO, World Bank, UN-DESA Population Division // Report. 2019. P. 1-52.
161. Ventilator-associated pneumonia in neonates, infants and children / M.H. Aelami, [et al.] // *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2014. Vol. 3(30). P. 1–10.
162. Vocal responsiveness of preterm infants to maternal infant-directed speaking and singing during skin-to-skin contact (Kangaroo Care) in the NICU / M. Carvalho, [et al.] // *Infant Behavior & Development*: URL: <https://doi.org/10.1016/j.infbeh.2019.101332>. - 2019. Текст электронный.
163. What is the role of cytokines in human colostrum? / V. Bocci, [et al.] // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 1991. Vol 5(04). P.121–124.
164. Wynn, J.L. Defining Neonatal Sepsis / J.L. Wynn // *Curr. Opin. Pediatr.* 2016. Vol. 28. P. 135-140.