

Статья поступила в редакцию 18.05.2021 г.

Лисихина Н.В., Галактионова М.Ю., Смирнова Ю.А.  
Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого,  
Сибирский юридический институт Министерства внутренних дел Российской Федерации,  
Красноярский краевой клинический центр охраны материнства и детства,  
г. Красноярск, Россия

## ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПУПОВИННОЙ КРОВИ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С СИНДРОМОМ ДЫХАТЕЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ

Синдром дыхательных расстройств является основной из наиболее тяжелых форм патологии недоношенных новорожденных, среди причин неонатальной смертности данная патология занимает ведущее место. Раннее прогнозирование и диагностика дыхательных нарушений, создание эффективной коррекции является актуальным вопросом для сохранения здоровья будущего поколения.

**Цель исследования** – определить значение изменений структурно-метаболических параметров клеток иммунной системы пуповинной крови при синдроме дыхательных расстройств у недоношенных новорожденных для выявления их патогенетической значимости.

**Материалы и методы.** Обследовано 64 недоношенных новорожденных, в первую группу (49 новорожденных) входили дети без СДР, во вторую (15 детей) – новорожденные с СДР. Изучались ферменты клеток иммунной системы в пуповинной крови недоношенных новорожденных: сукцинатдегидрогеназа и кислая фосфатаза, а также спектр нейтральных липидов и фосфолипидов.

**Результаты.** Выявленное в лимфоцитах крови у исследуемых недоношенных новорожденных статистически значимое повышение активности маркерного фермента лизосом – кислой фосфатазы и снижение содержания фосфатидилхолина – основного структурного компонента мембран клеток и сурфактанта, являющегося субстратом для лизосомальных ферментов, свидетельствует о вовлечении лизосом в патогенетические процессы развития синдрома дыхательных расстройств новорожденных.

**Заключение.** Полученные нами данные могут способствовать расширению представлений о спектре показаний к назначению медикаментозных средств, которые обладают способностью стабилизировать мембраны лизосом и, тем самым, снижать их функциональную активность.

**Ключевые слова:** недоношенные новорожденные; клетки иммунной системы; синдром дыхательных расстройств; сукцинатдегидрогеназа; кислая фосфатаза; сурфактант

Lisikhina N.V., Galaktionova M.Yu., Smirnova Yu.A.

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky,  
Siberian Law Institute of the Ministry of Internal Affairs of the Russian Federation,  
Krasnoyarsk Regional Clinical Center for Maternal and Child Health, Krasnoyarsk, Russia

### FEATURES OF STRUCTURAL AND METABOLIC PARAMETERS OF UMBILICAL CORD BLOOD IMMUNE SYSTEM CELLS IN PREMATURE NEWBORNS WITH RESPIRATORY DISORDERS SYNDROME

Respiratory disorders syndrome is the main of the most severe forms of pathology of premature newborns, among the causes of neonatal mortality, this pathology occupies a leading place. Early prediction and diagnosis of respiratory disorders, the creation of an effective correction is an urgent issue for the preservation of the health of the future generation.

**The purpose of the study** – to determine the significance of changes in the structural and metabolic parameters of the cells of the umbilical cord blood immune system in the syndrome of respiratory disorders in premature newborns to identify their pathogenetic significance.

**Materials and methods.** 64 premature newborns were examined, group 1 (49 newborns) included children without SDR, and group 2 (15 children) included newborns with SDR. We studied the enzymes of the immune system cells in the umbilical cord blood of premature newborns: succinate dehydrogenase and acid phosphatase, as well as the spectrum of neutral lipids and phospholipids.

**Results.** The statistically significant increase in the activity of the marker enzyme lysosomal acid phosphatase and a decrease in the content of phosphatidylcholine, the main structural component of cell membranes and surfactant, which is a substrate for lysosomal enzymes, revealed in the blood lymphocytes of the studied premature newborns, indicates the involvement of lysosomes in the pathogenetic processes of the development of neonatal respiratory disorders syndrome.

Информация для цитирования:

10.24411/2686-7338-2021-3-48-53

Лисихина Н.В., Галактионова М.Ю., Смирнова Ю.А. Особенности структурно-метаболических параметров клеток иммунной системы пуповинной крови у недоношенных новорожденных с синдромом дыхательных расстройств //Мать и Дитя в Кузбассе. 2021. №3(86). С. 48-53.

**Conclusion.** The data obtained by us can help to expand the understanding of the spectrum of indications for the appointment of drugs that have the ability to stabilize the membranes of lysosomes and thereby reduce their functional activity.

**Key words:** premature infants; cells of the immune system; respiratory disorder syndrome; succinate dehydrogenase; acid phosphatase; surfactant

Синдром дыхательных расстройств у новорожденного (СДР) – полиэтиологическое патологическое состояние, характеризующееся острой дыхательной недостаточностью и артериальной гипоксемией, развивающееся у младенцев в первые часы и дни жизни. Выживаемость таких детей сопровождается физической, интеллектуальной и эмоциональной неполноценностью, определяющей в дальнейшем повышение частоты инвалидизации и ухудшение качества жизни. Большинство клиницистов отмечено преимущественное развитие синдрома дыхательных расстройств у недоношенных, у которых частота возникновения и тяжесть данной патологии коррелирует с гестационным возрастом. Летальность при синдроме дыхательных расстройств, по данным разных авторов, колеблется от 30 до 100 % [1-3].

Важной патогенетической причиной в развитии данного синдрома является дефицит системы сурфактанта, основным компонентом которой являются поверхностно-активные фосфолипиды, но остается неясным, что лежит в основе дефицита сурфактанта. Концепция о том, что в основе развития СДР является структурно-функциональная незрелость системы сурфактанта, связанная со сроком гестационного возраста, остается ведущей. Исходя из этой концепции, вероятность развития СДР у новорожденных после тридцать второй недели гестации должна быть минимальной, что не соответствует статистическим данным. Исследователи считают, что в течении и исходе данной патологии большую роль играет повреждение сурфактанта, которое может быть связано с его инактивацией в перинатальный период [1, 4]. Некоторые авторы полагают, что при СДР большое значение имеет активация перекисного окисления липидов под воздействием токсических радикалов кислорода. Интенсификация перекисного окисления липидов происходит при многих патогенетических состояниях, сопровождающихся внутриутробной и постнатальной гипоксией [4, 5]. В то же время, можно предполагать, что интенсивный распад липидов сурфактанта может быть связан не только с гипоксией и перекисным окислением липидов, но и с измененным функционированием лизосом. Известно, что именно лизосомы ответственны за катаболические процессы в клетках, маркерным ферментом лизосом является кислая фосфатаза.

Поскольку синдром дыхательных расстройств является ведущей причиной смертности детей, родившихся недоношенными, различные исследования в этой сфере являются актуальными.

**Цель исследования** – выявить патогенетическую значимость изменений структурно-метаболических параметров клеток иммунной системы у

недоношенных при синдроме дыхательных расстройств.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН «Научно-исследовательском институте медицинских проблем Севера СО РАМН». Для исследования отбирались новорожденные, родившиеся недоношенными (28-36 недель гестации) – 64 ребенка. Все дети родились через естественные родовые пути у соматически здоровых матерей, без тяжелой асфиксии и явных признаков внутриутробного инфицирования. Нами была выделена группа (15 детей) среди недоношенных новорожденных с критическим состоянием неонатального периода – тяжелым синдромом дыхательных расстройств, все остальные недоношенные (49 детей) были объединены в одну группу детей без данного синдрома.

В клетках иммунной системы пуповинной крови новорожденных детей с синдромом дыхательных расстройств была исследована активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) – важнейшего фермента цикла Кребса и кислой фосфатазы (КФ) – гидролитического фермента лизосом, по активности которого можно судить об интенсивности катаболических процессов в клетке. Спектр нейтральных липидов и фосфолипидов изучали методом тонкослойной хроматографии.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью прикладных программ для комплексного статистического анализа MS Excel 2007 и «Statistica 8.0». Математическая обработка результатов исследования осуществлялась с использованием описательных статистик: вычислялись средняя арифметическая вариационного ряда (M), ошибка средней арифметической ( $\pm m$ ), среднеквадратичное отклонение. Различия между средними величинами в сравниваемых группах считались достоверными при  $p < 0,05$ . Оценивалась парная корреляционная зависимость (по Спирмену) каждого параметра по значению коэффициента корреляции  $r$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка полученных данных показала, что активность фермента СДГ лимфоцитов не отличалась статистически значимо при изучении данного фермента в группах недоношенных с СДР и без данного синдрома (рис. 1).

В то же время, нами зарегистрировано статистически значимое повышение активности КФ в лимфоцитах пуповинной крови у недоношенных детей с СДР (рис. 2) в сравнении с группой детей без СДР

( $p < 0,001$ ). Изучение активности КФ в гранулоцитах также выявило статистически значимое повышение ( $p = 0,015$ ) этого энзима у детей с СДР, в сравнении с новорожденными без данного синдрома (рис. 3).

Высокая активность КФЛ и КФГ может свидетельствовать об активации деятельности лизосом в лимфоцитах и гранулоцитах пуповинной крови у детей с СДР и усилении катаболических процессов в клетке.

Нами обнаружено статистически значимое снижение содержания фосфатидилхолина (ФХ) ( $p = 0,043$ ) и увеличение содержания лизофосфатидилхолина (ЛФХ) ( $p = 0,026$ ) у недоношенных новорожденных с СДР (рис. 4, 5) при изучении фракций общих фосфолипидов в обеих группах.

В результате статистически значимо снижается индекс ФХ/ЛФХ в мембране лимфоцитов пуповинной крови у недоношенных с СДР, по сравнению с недоношенными без синдрома (рис. 6).

Кроме того, выявлено повышение сфингомиелина (СМ) и легкоокисляемых фракций липидов (ЛОФР) у недоношенных новорожденных с СДР, в сравнении с недоношенными новорожденными без СДР. Также нами было исследовано соотношение СМ/ФХ в мембранах лимфоцитов у недоношенных детей. Установлено повышение этого соотношения у недоношенных новорожденных с СДР по сравнению с недоношенными детьми без СДР, но разница не достигает статистической значимости ( $p = 0,08$ ).

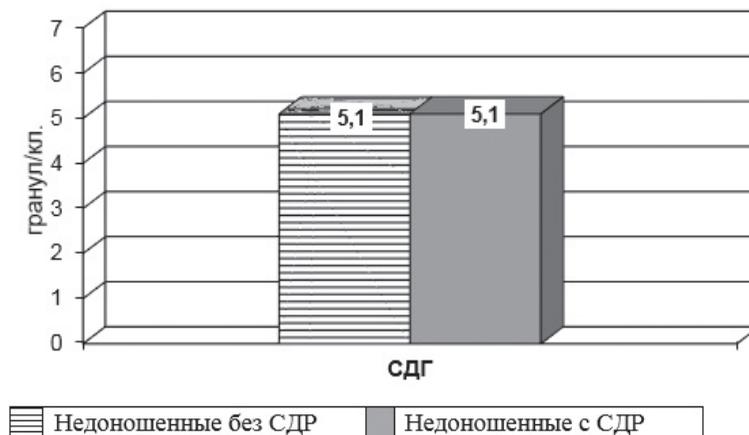
Нами были исследованы корреляционные связи между липидами, составляющими мембрану лимфоцитов пуповинной крови у недоношенных детей без СДР и недоношенных детей с СДР.

У недоношенных новорожденных без синдрома отмечается тесная связь между общими фосфолипидами и свободным холестерином ( $r = -1$ ;  $p < 0,001$ ) и слабая связь между общими фосфолипидами и фосфатидилхолином ( $r = -0,4$ ;  $p < 0,08$ ) и свободным холестерином с фосфатидилхолином ( $r = 0,4$ ;  $p < 0,08$ ). Среди фосфолипидов

выявлена прямая корреляция между лизофосфатидилхолином и сфингомиелином ( $r = 0,6$ ;  $p < 0,05$ ), и обратные корреляционные связи между фосфатидилхолином и легкоокисляемыми фракциями липидов ( $r = -0,6$ ;  $p < 0,02$ ), сфингомиелином и легкоокисляемыми фракциями липидов ( $r = -0,8$ ;  $p < 0,02$ ), лизофосфатидилхолина с легкоокисляемыми фракциями липидов ( $r = -0,5$ ;  $p < 0,05$ ).

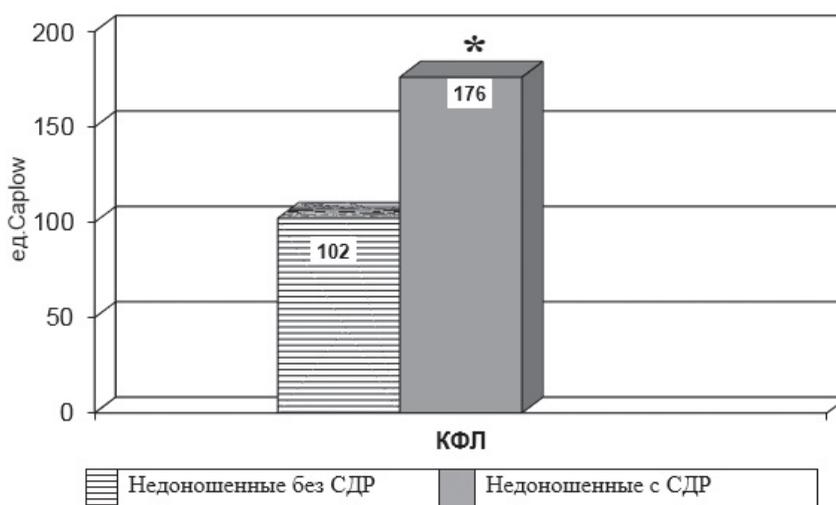
**Рисунок 1**  
Активность сукцинатдегидрогеназы у недоношенных без СДР и у недоношенных с СДР

**Figure 1**  
Succinate dehydrogenase activity in premature infants without SDR and in premature infants with SDR



**Рисунок 2**  
Активность кислой фосфатазы в лимфоцитах у недоношенных детей без СДР и с СДР

**Figure 2**  
Acid phosphatase activity in lymphocytes in premature infants without SDR and with SDR



**Примечание (Note):**  $p_{1,2} < 0,001$

кисляемыми фракциями липидов ( $r = -0,8$ ;  $p < 0,02$ ), лизофосфатидилхолина с легкоокисляемыми фракциями липидов ( $r = -0,5$ ;  $p < 0,05$ ).

У недоношенных детей с СДР выявлены некоторые отличия корреляционных связей между липи-

дами мембраны лимфоцитов. Определяется тесная связь между общими фосфолипидами и свободным холестерином ( $r = -1$ ;  $p < 0,001$ ), возникает прямая корреляция между общими фосфолипидами и лизофосфатидилхолином ( $r = 0,7$ ;  $p < 0,05$ ) и обратная связь между свободным холестерином и лизофосфатидилхолином ( $r = -0,7$ ;  $p < 0,05$ ).

Среди фосфолипидов имеются обратная, слабая корреляционная связь между СМ и ЛОФР ( $r = -0,5$ ;  $p = 0,2$ ) и сильная между ФХ и ЛОФР ( $r = -0,67$ ;  $p < 0,05$ ). В то же время, в отличие от недоношенных без СДР, в этой группе детей появляется обратная корреляционная связь между лизофосфатидилхолином и фосфатидилхолином ( $r = -0,5$ ;  $p < 0,1$ ).

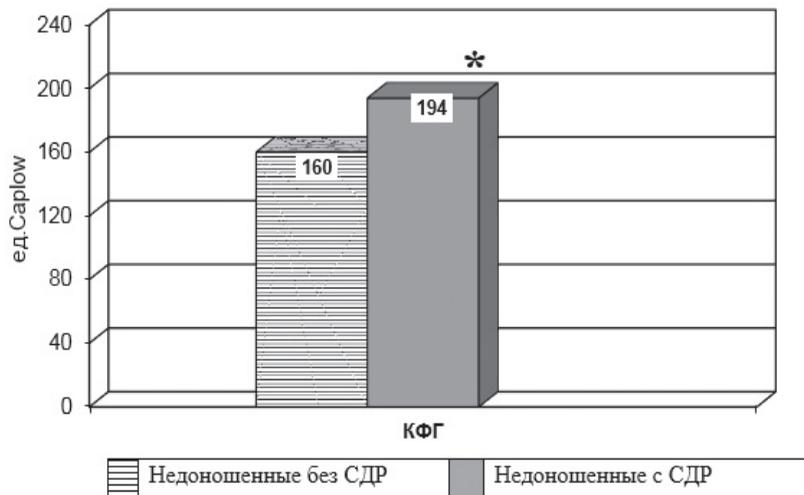
## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у недоношенных детей с СДР, по сравнению с недоношенными детьми без СДР, выявлены изменения в соотношении структурных липидов мембраны клеток: тенденция к нарастанию содержания сфингомиелина, статистически значимое снижение фосфатидилхолина и повышение содержания лизофосфатидилхолина, что свидетельствует о значительном нарастании процессов деполимеризации мембран и мембраноподобных структур, в том числе и сурфактанта. Кроме того, нами установлено, что особенностью изменений метаболических параметров лимфоцитов пуповинной крови у недоношенных детей с СДР является отсутствие изменений активности сукцинатдегидрогеназы и статистически значимое повышение активности кислой фосфатазы (маркерного фермента лизосом) у недоношенных детей с СДР по сравнению с недоношенными детьми без данной патологии.

Известно, что повышение содержания лизосомального фермента в лимфоцитах является ранним и весьма чувствительным тестом, свидетельствующим о патологических изменениях в тканях. Это может свидетельствовать о вовлечении лизосом в патогенетические процессы развития СДР у новорожденных, ферменты которых осуществляют деполимеризацию макромолекул, в том числе фосфатидилхолина.

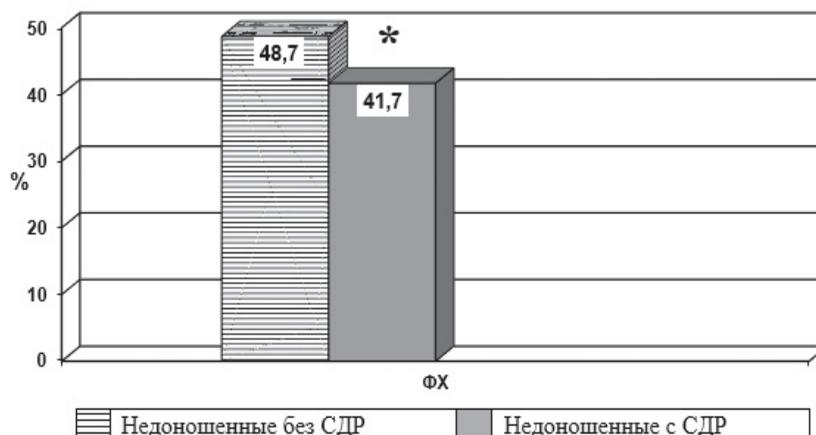
Полученные данные могут способствовать формированию дополнительных представлений о роли лизосом в развитии синдрома дыхательных расстройств у недоношенных новорожденных и способствовать расширению представлений о спектре показаний к назначению лекарственных препаратов, обладающих способностью стабилизировать мембраны и снижать функциональную активность лизосом.

Рисунок 3  
Активность кислой фосфатазы в гранулоцитах у недоношенных детей без СДР и с СДР  
Figure 3  
Acid phosphatase activity in granulocytes in premature infants without SDR and with SDR



Примечание (Note):  $p_{1,2} = 0,01$

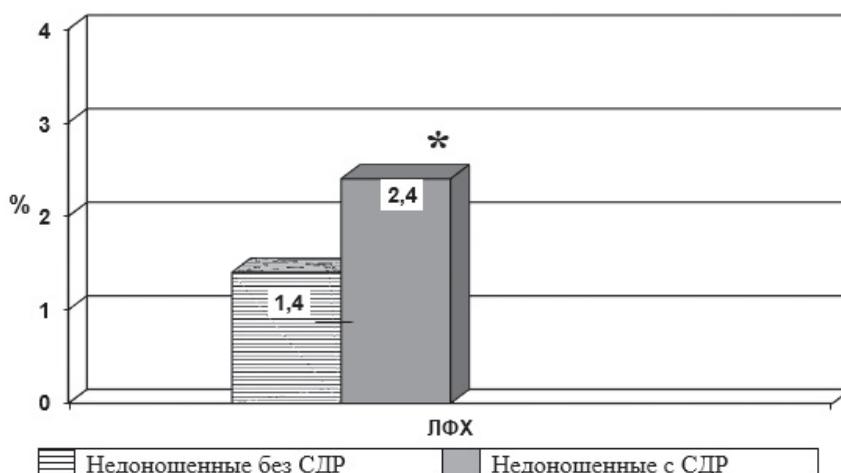
Рисунок 4  
Содержание фосфатидилхолина в мембране лимфоцитов пуповинной крови у недоношенных новорожденных без СДР и с СДР  
Figure 4  
The content of phosphatidylcholine in the membrane of cord blood lymphocytes in premature infants without SDR and with SDR



Примечание (Note):  $p = 0,04$

**Рисунок 5**  
Содержание  
лизофосфатидилхолина  
в мембране лимфоцитов  
пуповинной крови  
у недоношенных  
новорожденных без СДР и с СДР

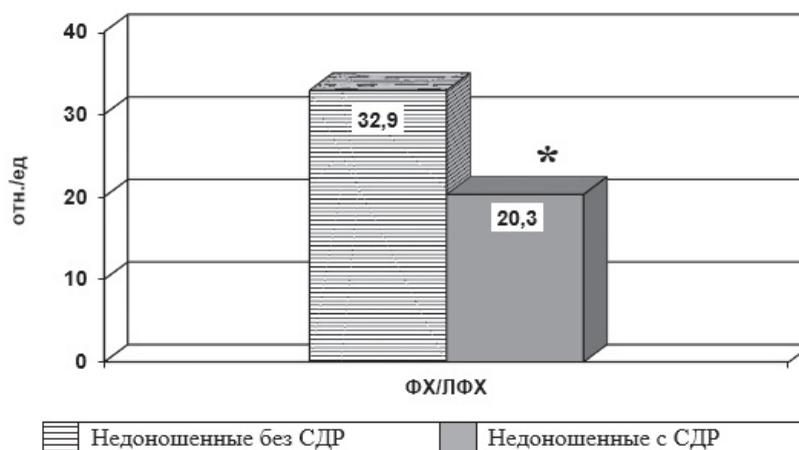
**Figure 5**  
The content of  
lysophosphatidylcholine in the  
membrane of umbilical cord blood  
lymphocytes in premature infants  
without SDR and with SDR



Примечание (Note):  $p = 0,026$

**Рисунок 6**  
Соотношение ФХ/ЛФХ  
в мембране лимфоцитов  
пуповинной крови  
у недоношенных  
новорожденных без СДР и с СДР

**Figure 6**  
PC/LPH ratio in the membrane  
of cord blood lymphocytes in pre-  
mature infants without SDR and  
with SDR



Примечание (Note):  $p = 0,009$

#### Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

- Gasimova EA, Mirzoeva IA. Modern aspects of etiopathogenesis, diagnosis and treatment of respiratory distress syndrome in newborns. *Eur J of Biomed and Life Sciences*. 2018; 4: 3-9. Russian (Гасимова Е.А., Мирзоева И.А. Современные аспекты этиопатогенеза, диагностики и лечения респираторного дистресс-синдрома новорожденных //European journal of biomedical and life sciences. 2018. № 4. С. 3-9.)
- Perepelitsa SA. Acute respiratory distress syndrome in preterm newborns (morphological study). *General Resuscitation*. 2020; 16(1): 35-44. Russian (Перепелица С.А. Острый респираторный дистресс-синдром у недоношенных новорожденных (морфологическое исследование) //Общая реаниматология. 2020. Т. 16, № 1. С. 35-44.)
- Oddo VM. Stunting mediates the association between small-for-gestational-age and postneonatal mortality. *J. Nutr*. 2016; 11: 2383-2387.
- Loskutova EV, Vorontsova IA, Vakhitov KhM, Safiullin TR. The role of destabilization of lipid peroxidation and antioxidant protection in the pathogenesis of hypoxia in premature infants. *Kazanskiy Meditsinskiy Zhurnal*. 2017; 98(5): 803-808. Russian (Лоскутова Е.В., Воронцова И.А., Вахитов Х.М., Сафиуллин Т.Р. Роль дестабилизации процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в патогенезе гипоксии у недоношенных новорожденных // Казанский медицинский журнал. 2017. Т. 98, № 5. С. 803-808.)
- Suleimenova IE, Makhshova AM, Omirbekova NB, Asylbekova AK, Altynbekova MZh. Respiratory distress syndrome of the newborn: a modern view of the problem. *KazNMU Bulletin*. 2018; 1: 137-138. Russian (Сулейменова И.Е., Махашова А.М., Омирбекова Н.Б., Асылбекова А.К., Алтынбекова М.Ж. Респираторный дистресс-синдром новорожденных: современный взгляд на проблему //Вестник КазНМУ. 2018. № 1. С.137-138.)

**КОРРЕСПОНДЕНЦИЮ АДРЕСОВАТЬ:**

ЛИСИХИНА Наталья Владимировна, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1,  
ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России.  
E-mail: nata78nata@rambler.ru

**ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ****INFORMATION ABOUT AUTHORS**

ЛИСИХИНА Наталья Владимировна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра поликлинической педиатрии и пропедевтики детских болезней с курсом ПО, ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России; доцент, кафедра криминалистики, ФГКОУ ВО Сибирский юридический институт Министерства внутренних дел России, г. Красноярск, Россия.  
E-mail: nata78nata@rambler.ru

LISIKHINA Natalia Vladimirovna, candidate of medical sciences, assistant, department of outpatient pediatrics and propedeutics of childhood diseases with the course of PO, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky; docent, department of criminalistics, Siberian Law Institute of the Ministry of Internal Affairs of Russia, Krasnoyarsk, Russia.  
E-mail: nata78nata@rambler.ru

ГАЛАКТИОНОВА Марина Юрьевна, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой поликлинической педиатрии и пропедевтики детских болезней с курсом ПО, ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г. Красноярск, Россия.  
E-mail: myugal@mail.ru

GALAKTIONOVA Marina Yurievna, doctor of medical sciences, professor, head of the department of outpatient pediatrics and propedeutics of childhood diseases with a course of PO, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia. E-mail: myugal@mail.ru

СМИРНОВА Юлия Анатольевна, врач анестезиолог-реаниматолог, врач-неонатолог, зав. отделением, КГБУЗ КККЦОМД, г. Красноярск, Россия.  
E-mail: smirnovaylia@mail.ru

SMIRNOVA Yulia Anatolyevna, anesthesiologist-resuscitator, neonatologist, head of the department, Krasnoyarsk Regional Clinical Center for Maternity and Childhood Protection, Krasnoyarsk, Russia.  
E-mail: smirnovaylia@mail.ru