

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук

На правах рукописи

Лопатин Алексей Игоревич

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ МОДУЛЯЦИЯ МЕХАНИЗМОВ ЦИТОПРОТЕКЦИИ
В ХОДЕ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ И РЕАНИМАЦИИ
НЕДОНОШЕННЫХ

1.5.5 – Физиология человека и животных
3.1.12. – Анестезиология и реаниматология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный
руководитель:
доктор биологических
наук, профессор
Е.В. Лопатина;
кандидат медицинских
наук В.В. Андреев

Санкт-Петербург
2025

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1. ПРОБЛЕМА НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ В РОССИИ	15
1.2. АНАТОМО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ НЕДОНОШЕННОГО РЕБЕНКА.....	ОСОБЕННОСТИ 17
1.3. ИНОТРОПНЫЕ И ВАЗОПРЕССОРНЫЕ ПРЕПАРАТЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ У НОВОРОЖДЕННЫХ	21
1.4. МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ АЦИДОЗ	26
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	34
2.1. КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ №1	34
2.1.1. ХАРАКТЕРИСТИКА УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	34
2.1.2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	34
2.1.2.1. АНАЛИЗ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ.....	35
2.1.2.2. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЙ МЕТОД	377
2.1.2.3. АНАЛИЗ ФАКТОРОВ РИСКА	37
2.2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
2.2.1. ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	38
2.2.1.1. МОРФОЛОГИЯ СЕТЧАТКИ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ.....	38
2.2.1.2. МОРФОЛОГИЯ СЕРДЦА В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ.....	39
2.2.2. МЕТОД ОРГАНОТИПИЧЕСКОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТКАНИ	40
2.2.3. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭКСПЛАНТАТОВ ТКАНИ СЕТЧАТКИ 12- ДНЕВНОГО КУРИНОГО ЭМБРИОНА	40
2.2.4. ПРЕПАРИРОВАНИЕ ТКАНИ СЕТЧАТКИ И СЕРДЦА, ПРОЦЕДУРА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ	411
2.2.5. МОДЕЛЬ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО АЦИДОЗА <i>IN VITRO</i>	44
2.3. КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ №2.....	45
2.3.1. ХАРАКТЕРИСТИКА УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ №2	45
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	47
3.1. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ЧАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ №1	47

3.1.1. АНАЛИЗ ВЕДУЩИХ ФАКТОРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ РЕТИНОПАТИИ НОВОРОЖДЕННЫХ.....	47
3.1.2. АНАЛИЗ РИСКА РАЗВИТИЯ РЕТИНОПАТИИ НОВОРОЖДЕННЫХ ГРУППЫ ДЕТЕЙ МАКСИМАЛЬНОГО РИСКА.....	56
3.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ №1	62
3.2.1. ИССЛЕДОВАНИЕ УЧАСТИЯ АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ РЕТИНОГЕНЕЗА В МОДЕЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ	62
3.2.2. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЦИТОФЛАВИНА И ГИДРОКАРБОНАТА НАТРИЯ НА РОСТ ЭКСПЛАНТАТОВ ТКАНИ СЕРДЦА И СЕТЧАТКИ 12-ДНЕВНОГО КУРИНОГО ЭМБРИОНА В НОРМЕ И В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИ АЦИДОЗА <i>IN VITRO</i>	68
3.3. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ЧАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ №2	71
3.3.1. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЦИТОФЛАВИНА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО АЦИДОЗА В КЛИНИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ.....	71
3.3.2. ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ ПРИМЕНЕНИЯ ЦИТОФЛАВИНА В КОРРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У НОВОРОЖДЕННОГО НЕДОНОШЕННОГО РЕБЕНКА.....	77
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	81
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	99
ВЫВОДЫ.....	100
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	102
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	104

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ЭНМТ – экстремально низкая масса тела
ОНМТ – очень низкая масса тела
ЦНС – центральная нервная система
ЭЭГ – электроэнцефалограмма
ЭКГ – электрокардиограмма
ГВ – гестационный возраст
ИП – индекс площади
МДА – малоновый диальдегид
РАН – Российская академия наук
БГМ – болезнь гиалиновых мембран
АТФ – аденоинтрифосфат
ЦАМФ – циклический аденоцимонофосфат
ОПСС – общее периферическое сосудистое сопротивление
АВ – атриовентрикулярный узел
ЧСС – частота сердечных сокращений
ЦВД – центральное венозное давление
SvO₂ – венозная сатурация крови
ЭФПЭ – электрофоретическая подвижность эритроцитов
ПЦР – полимеразная цепная реакция
КЩР – кислотно-щелочное равновесие
КОС – кислотноосновное состояние
ГТС – гепотрансфузия
ОАП – открытый артериальный проток
ОРИТН – отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных
ВЖК – внутрижелудочковое кровоизлияние
ОПН – отделение патологии новорожденных
СТ – стекловидное тело
ВРХ – витреоретинальная хирургия

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы и степень ее разработанности

Ранний неонатальный период онтогенеза – самый важный период физиологической адаптации ребенка к изменившимся условиям окружающей среды. Появление на свет сопровождается активацией всех систем жизнеобеспечения организма. Большая нагрузка ложиться на нервную, вегетативную, дыхательную, сердечно-сосудистую системы.

В 2011 г. Россия приняла нормативы ВОЗ, согласно которым младенцев необходимо выхаживать с 22 недель при массе от 500 г и длине тела более 35 см. По данным Минздрава РФ, частота рождения детей с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) в России фиксируется на уровне 0,2%, с очень низкой массой тела (ОНМТ) — 0,8%. Недоношенные дети умирают в 30–35 раз чаще, чем дети, родившиеся в срок (Симаходский и др., 2020). Осложнения в результате преждевременных родов являются основной причиной смерти детей в возрасте до 5 лет. Детям, родившимся раньше положенного срока, сложнее адаптироваться к новой среде обитания в силу физиологической незрелости их органов и систем.

При этом, совершенствование условий выхаживания детей с экстремально низкой массой тела с целью предотвращения их гибели, увеличивает частоту возникновения заболеваний, которые в дальнейшем могут привести к инвалидизации детей данной группы. Одним из них является ретинопатия недоношенных, тяжелое заболевание, приводящее к неустранимой слепоте с раннего детства (Демьянова и др., 2006; Polin and Yoder, 2007; Hughes et al., 2000; Penn et al., 2008; Пономарева и др., 2021). По статистике ретинопатия недоношенных появляется у каждого пятого младенца, родившегося раньше срока, причём тяжёлыми формами болезни страдают до 8% недоношенных (Симаходский и др., 2020). Опыт отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных № 39а ДГБ №1 Санкт-Петербурга подтверждает данную статистику. Низкий вес при рождении и недоношенность являются

основными факторами риска, и они легли в основу клинических рекомендаций по скринингу на РН у всех детей с гестационным возрастом до 35 недель и массой тела менее 2000 г. Однако, многие исследователи указывают и на другие факторы риска, которые можно разделить на материнские, пренатальные и перинатальные (Макогон и др., 2024; Holmes et al., 1999; Berdahl et al., 2005).

Одним из таких факторов и частым осложнением шокового состояния, с которым сталкиваются детские реаниматологи в первые часы и дни жизни новорожденных детей является метаболический ацидоз. Данное состояние приводит к уменьшению ударного и минутного объема крови на фоне снижения сократительной функции миокарда, а также к уменьшению чувствительности сердечно-сосудистой системы к воздействию препаратов с инотропной и вазопрессорной активностью. Увеличивается риск развития судорожного синдрома, возникает нарушение мозгового кровообращения и развитие внутрижелудочных кровоизлияний (Афанасьев, 2005). Поражения ЦНС в перинатальном периоде способствуют появлению ранней психоневрологической инвалидизации (ранняя детская инвалидность выявлена в 60-70% случаев) (Ковальчук и др., 2018).

Помимо лечения основного заболевания, которое и провоцирует развитие метаболических нарушений, базовой терапией метаболического ацидоза является применение раствора гидрокарбоната натрия (Беляевский, Монченко, 1997; Чупров, Стемповский, 2008; Тепаев и др., 2016). Однако, длительное применение раствора гидрокарбоната натрия у новорожденных детей с острым шоковым состоянием может вызвать тяжелую гипернатриемию. В отличие от гипернатриемии у взрослого человека, грубое нарастание содержания натрия в крови у детей приводит к развитию серьезных неврологических расстройств. Умственная отсталость, а также очаговые неврологические дефекты, такие как пара- и гемиплегии являются частыми последствиями гипернатриемии у детей (Büyükkaragöz, Bakkaloglu

2023). В связи с этим для уменьшения использования натрий содержащих растворов остро встает вопрос поиска дополнительных средств коррекции метаболических нарушений у новорожденных.

Исследования, описанные в работе Виноградовой И.В. и соавторов, указывают на то, что серьезные перспективы имеют препараты, содержащие сукцинат, в частности цитофлавин (Виноградова и др., 2016). Преимущества сукцинатов над другими субстратами клеточного дыхания проявляются при гипоксии, когда происходит нарастание скорости окисления и продукции эндогенного сукцинатов. Он может влиять на метаболизм тканей и клеток организма, изменяя белковый синтез, ионный транспорт и клеточное дыхание (Лазарев, Гадомский 2016). Доказано, что цитофлавин способен оказывать нейро- и церебропротективный эффект при лечении детей с гипоксически-ишемическими и гипоксически-геморрагическими поражениями ЦНС. Также есть исследования, демонстрирующие кардиопротективное действие данного препарата, что дает основание для его применения в терапии новорожденных детей первых дней жизни с расстройствами нейрометаболизма в рамках комплексного лечения перинатальных поражений (Кирьяков и др. 2018).

При проведении интенсивной терапии, которая оказывается новорожденному, основной задачей является не только стабилизация жизненно важных показателей, но и применение подходов и средств, снижающих возникновение и тяжесть инвалидизации пациента в постнатальном онтогенезе.

Учитывая вышеизложенное, а также доклады ВОЗ 2018, 2019 гг., ООН 2019 г. о глобальных действиях в отношении преждевременных родов, где говорится примерно о 15 млн преждевременно рожденных детей, из которых более 1 млн умирают вскоре после рождения, исследование, посвященное изучению возможности модуляции физиологических механизмов

цитопротекции в ходе интенсивной терапии и реанимации недоношенных с низкой и экстремально низкой массой тела является актуальным.

Степень разработанности темы

Результаты исследований о возможном провоцирующем влиянии срока гестационного возраста, веса пациента, количества часов, проведенных на ИВЛ, процентного содержания кислорода в газовоздушной смеси на развитие ретинопатии недоношенных с низкой и экстремально низкой массой тела противоречивы. Не установлена связь между применением препаратов группы биогенных аминов в ходе реанимации и интенсивной терапии недоношенных новорожденных и степенью прогрессирования ретинопатии новорожденных. Данных о вкладе катехоламинов и разных типов адренорецепторов в ретиногенез объекта, возраст которого соответствует 24 неделе гестации плода человека нет. Отсутствуют сведения о прямом влиянии цитофлавина на ретино- и кардиогенез в модельных условиях ацидоза *in vitro*. Клинических данных, доказывающих эффективность терапии метаболического ацидоза у новорожденных 1-2 дня жизни, проводимой с помощью цитофлавина и ее сопоставление с таковой при использовании гидрокарбоната натрия нет. Настоящее исследование предлагает учитывать возможность модуляции физиологических механизмов цитопротекции в ходе интенсивной терапии и реанимации недоношенных с низкой и экстремально низкой массой тела.

Цель исследования

Клинически и экспериментально исследовать возможность модуляции физиологических механизмов цитопротекции в ходе интенсивной терапии и реанимации недоношенных с низкой и экстремально низкой массой тела.

Задачи исследования

1. Провести клинико-инструментальное обследование новорожденных с разной степенью зрелости (осмотр, забор венозной крови, лабораторные

исследования, выполнение ЭЭГ, ЭКГ). Сформировать экспериментальные и контрольную группы.

2. Провести анализ влияния интенсивной терапии недоношенных разной степени зрелости на развитие ретинопатии новорожденных, выделить факторы риска.
3. В условиях органотипической культуры ткани изучить механизм вклада катехоламинов в регуляцию ретиногенеза эмбриональной сетчатки.
4. Разработать экспериментальную модель ацидоза *in vitro* в условиях органотипического культивирования ткани.
5. На модели ацидоза *in vitro* оценить ретино- и кардиопротекторные свойства цитофлавина и гидрокарбоната натрия.
6. В клинических условиях разработать протокол стабилизации картины метаболического ацидоза при введении в терапию цитофлавина.

Научная новизна

В условиях органотипического культивирования впервые показано, что норадреналин дозозависимо регулирует рост эксплантатов ткани сетчатки 12-дневного куриного эмбриона в диапазоне концентраций от 10^{-4} М до 10^{-12} М. В дозе 10^{-12} М норадреналин стимулирует рост экспериментальных эксплантатов на 40%. Ингибиторный анализ показал, что трофотропный эффект опосредован активацией α_1 -адренорецепторов. Выявлен ретинотоксический эффект адреналина (10^{-4} - 10^{-8} М) и норадреналина (10^{-4} - 10^{-8} М), реализующийся при участии β -адренорецепторов. Адреналин (10^{-4} М), как и норадреналин (10^{-4} М), угнетал рост эксплантатов ткани сетчатки на 95%.

При культивировании ткани сетчатки и сердца в стандартных условиях обнаружено, что цитофлавин в диапазоне концентраций 0,2-20 мкл/мл не влияет на рост эксплантатов ткани сетчатки, а в диапазоне 0,2-2 мкл/мл не оказывает влияния на ткань сердца. В дозе 20 мкл/мл цитофлавин ингибирует рост эксплантатов ткани сердца на 34%.

На авторской модели ацидоза *in vitro* впервые зарегистрирован ретино- и кардиотоксический эффект ацидоза, ИП экспериментальных эксплантатов был ниже контрольного значения на 53% и 32% соответственно. Исследования показали, что ткань сетчатки 12-дневного куриного эмбриона более чувствительна к ацидозу, чем ткань сердца. Гидрокарбонат натрия нивелировал эти эффекты. На модели ацидоза *in vitro* обнаружены ретино- и кардиопротекторные свойства цитофлавина (0,2 мкл/мл). Эффект зарегистрирован на 3-е сутки культивирования. Результаты экспериментов совпали с клиническими данными о стабилизации основных параметров системы кислотно-основного равновесия (ВЕ, лактат) у детей, получивших в комплексной терапии цитофлавин в дозе 2 мл/кг/сут на 2-3 день проводимой терапии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Исследование, проведенное в клинических условиях, позволило сформулировать дополнительные критерии, наличие которых необходимо учитывать при проведении интенсивной терапии у новорожденных с низкой и экстремально низкой массой тела для исключения инвалидизации пациентов или снижения ее степени в постнатальном периоде. Показано, что количество гемотрансфузий не провоцирует прогрессирование ретинопатии; выявлена тесная связь срока гестации, уровня оксигенации (40% и выше) и количества часов пребывания на аппарате искусственной вентиляции легких со степенью выраженности ретинопатии новорожденных. Сохраняющиеся фетальные коммуникации не влияют на прогрессирование заболевания. Все прооперированные пациенты получали инотропную терапию препаратами группы биогенных аминов (адреналин, добутамин, норадреналин). Применение катехоламинов в лечении новорожденных детей является дополнительным фактором, который надо учитывать.

В условиях органотипической культуры ткани доказано участие α_1 -адренорецепторов в реализации ретиностимулирующего эффекта

норадреналина (10^{-12} М) и β -адренорецепторов в ретинотоксических эффектах высоких концентраций адреналина (10^{-4} М) и норадреналина (10^{-5} М).

Полученные результаты позволяют лучше понимать отдаленные эффекты от применения биогенных аминов во время лечения новорожденных.

Разработана модель ацидоза *in vitro*, которая позволяет тестировать препараты, потенциально регулирующие кислотно-щелочное равновесие и клеточный метаболизм. На модели ацидоза *in vitro* получены приоритетные данные, прямо подтверждающие ретино- и кардиопротекторные свойства цитофлавина в условиях дисбаланса кислотно-щелочного равновесия.

Доказана эффективность применения цитофлавина 2мл/кг/сут в виде продленной внутривенной инфузии для коррекции метаболических нарушений у новорожденных в первые дни жизни. Отрицательных побочных эффектов, наблюдавшихся при длительной терапии гидрокарбонатом натрия, у цитофлавина не обнаружено.

Положения, выносимые на защиту:

1. Применение в интенсивной терапии катехоламинов является фактором, провоцирующим прогрессирование ретинопатии у недоношенных новорожденных.
2. Связи между количеством гемотрансфузий и провоцированием развития ретинопатии нет. Существует корреляция между процентным содержанием кислорода в газовоздушной смеси, количеством часов ИВЛ, весом, сроком гестации и степенью прогрессирования ретинопатии.
3. Норадреналин, в отличие от адреналина, дозозависимо регулирует рост эксплантатов ткани сетчатки 12-дневного куриного эмбриона.
4. Ретиностимулирующий эффект норадреналина (10^{-12} М) опосредован активацией α -адренорецепторов. Ретинотоксический эффект высоких

доз катехоламинов (10^{-5} М) реализуется при участии β -адренорецепторов.

5. Цитофлавин и гидрокарбонат натрия устраниют кардио- и ретинотоксический эффект, спровоцированный ацидозом в условиях *in vitro*.
6. Эффективность применения цитофлавина для коррекции кислотно-основного ацидоза у новорожденных сопоставима с эффективностью гидрокарбоната натрия.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов обусловлена строгим соблюдением клинических рекомендаций, стандартизацией условий культивирования ткани сетчатки и сердца, анализом значительного фактического клинического и экспериментального материала, адекватным выбором методов статистической обработки.

Материалы работы были представлены в виде устных докладов на Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины» (Санкт-Петербург, 2021, 2022, 2023); Всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология», (Санкт-Петербург, 2022); IV Всероссийской (XIX) молодёжной научной школе-конференции «Молодёжь и наука на Севере – 2022; XXIV Съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023); Всероссийской конференции «Нейрогуморальные механизмы регуляции физиологических функций, посвященной 125-летию кафедры физиологии ПСПбГМУ им.акад. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023); VII Международном конгрессе, посвященном А.Ф. Самойлову «Фундаментальная и клиническая электрофизиология. Актуальные вопросы современной медицины» (Казань, 2024); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Учение академика И.П. Павлова в современной системе нейронаук», посвященной 175-летию со

дня рождения академика И.П. Павлова и 120-летию со дня вручения академику И.П. Павлову Нобелевской премии (Санкт-Петербург, 2024).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 15 работ, включая 5 статей в рецензируемых журналах из перечня ВАК и 1 публикацию в журнале базы данных Scopus.

Личное участие автора в получении результатов

Все клинические манипуляции, экспериментальные процедуры, обработка, анализ полученных результатов, подготовка материалов для публикации выполнены автором лично.

Соответствие паспорту научной специальности

Научные положения диссертации и результаты исследования соответствуют паспорту научной специальности: 1.5.5 – Физиология человека и животных, пункты 1, 2, 3, 5, 6; 3.1.12. «Анестезиология и реаниматология» – 8, 13.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 124 машинописных страницах, состоит из списка сокращений, введения и четырех глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов), практических рекомендаций, выводов и списка литературы. Диссертация содержит 14 таблиц и 24 рисунка. Библиографический список включает 99 работ отечественных и 68 зарубежных авторов.

Клиническая часть работы выполнена в отделении интенсивной терапии и реанимации новорожденных №39а Детского городского многопрофильного клинического специализированного центра высоких медицинских технологий (Детская городская больница №1, г. Санкт-Петербург). Экспериментальная часть работы выполнена в лаборатории физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Исследования выполнены в рамках

Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 0134-2019-0001.

Экспертная оценка научных работ

Научные исследования по теме диссертации удостоены дипломов второй степени на XXVIII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2022», Санкт-Петербург, 24-26 марта 2022; IV Всероссийской (XIX) молодежной научной школе-конференции «Молодежь и наука на Севере – 2022», Сыктывкар, 23-26 марта, диплома третьей степени на XXIV Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2023», Санкт-Петербург, 30-31 марта 2023.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Проблема недоношенных детей в России

Частота рождения недоношенных детей в Российской Федерации за последние годы колеблется от 4% до 16% (Баранов 2012).

Согласно исследованию отдела мониторинга здоровья населения, в 2008–2010 гг. количество детей с низкой массой тела составляет 4%-7,3% к числу рожденных; с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) – 0,1-0,3 %; с очень низкой массой тела (ОНМТ) – 0,8-0,9%. Удельный вес недоношенных детей в популяции неуклонно растет год от года и связано это, в первую очередь, с детьми, родившимися после 32 недели гестации (Arpino 2010).

На долю детей с ОНМТ и ЭНМТ приходится более 90% неонатальной и до 50% младенческой смертности (Cruz et al., 2013).

К категории детей с низким весом при рождении относятся новорожденные с массой менее 2500 г (Демьянова и др., 2006). Масса тела ребенка при рождении менее 1500 г является очень низкой массой тела. Дети, рожденные с массой тела менее 1000 г, относятся к категории новорожденных с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ), которые в большинстве случаев рождаются до 27 недели.

Выживаемость новорожденных с ЭНМТ напрямую зависит от срока гестационного возраста (ГВ): чем меньше срок, тем выше процент летальности. Так, при гестационном возрасте 22 недели смертность составляет около 94%, а при 28 неделях и выше – 8% (Kusuda et al., 2006).

Дети, родившиеся при сроке гестации менее 23 недели и весом при рождении менее 500 г, выживают крайне редко. Среди выживших детей данной группы доля новорожденных с сохраненным здоровьем и отсутствием инвалидности катастрофически мала.

Зарубежные авторы пришли к мнению, что зона предела жизнеспособности у новорожденных соответствует весу при рождении 500-600 г и ГВ 23-24 недели (по другим оценкам – 21-22 недели беременности)

(Singh et al., 2007). Выживаемость, заболеваемость, дальнейший рост и развитие недоношенного ребенка во многом зависят от эффективности медицинской помощи на всех этапах выхаживания недоношенных детей (Сорокина, Юсупова 2010; Перцева и др., 2011; Беляева и др 2011; Курносов и др., 2012; Яцык и др., 2013)

Усовершенствование технологий и современный подход к лечению и выхаживанию новорожденный недоношенных детей с ЭНМТ позволили снизить смертность пациентов этой группы, однако количество выживших детей с тяжелыми инвалидизирующими последствиями, такими как хронические заболевания легких, когнитивные задержки, церебральный паралич, нейросенсорный дефицит (например, глухота и слепота), остается очень высокой (Баранов и др., 2001; Демьянова и др., 2006; Коротаева 2010; Байкова и др. 2011; Амирова и др., 2019).

У большинства детей после проведенного лечения выявляются нарушения сразу нескольких функций организма. 50,5% пациентов имели нарушения статодинамической функции. Речевые и психические нарушения были выявлены у 46,5% детей, при этом преимущественно выраженной степени у 41,3% и значительно выраженной степени у 34,8%. Сенсорные нарушения выявлены у 2,5% пациентов (умеренной степени – у 20%, выраженной – у 80%). Нарушения функции обмена веществ и энергии умеренной степени отмечено у 0,5% исследуемых. Наличие у детей стойких нарушений функций организма привело к развитию ограничений основных категорий жизнедеятельности (Некрасов и др., 2013).

Недоношенные дети представляют проблему первостепенной важности для здравоохранения не только в России, но и во всем мире. Актуальность изучения данной темы в Российской Федерации значительно выросла за последние годы, особенно после появления новых критериев живорождения, рекомендуемых всемирной организацией здравоохранения (Байбарина 2010, Байбарина, Дегтярев 2011, Сахарова и др., 2017).

Исследования по улучшению подходов и методов лечения, а также выявление зависимостей между проводимым лечением и его исходом у недоношенных детей, составляют научный интерес детских реаниматологов и неонатологов по всему миру (Иванов и др., 2016).

1.2. Анатомо-физиологические особенности недоношенного ребенка

Недоношенным детям свойственно особое телосложение: умеренно большая голова с преобладанием размера мозгового черепа над лицевым, открытые малый и боковой роднички, низко расположено пупочное кольцо, слаборазвитая подкожно-жировая клетчатка. Для недоношенных новорожденных характерно обильное пушковое оволосение (ланugo), а также недоразвитие ногтей при крайней степени незрелости. На фоне недостаточной минерализации кости черепа мягкие и податливые, как и ушные раковины. Для мальчиков свойственно неопущение яичек в мошонку, а у крайне незрелых детей мошонка вообще недоразвита. Для недоношенных девочек характерна зияющая половая щель вследствие недоразвития половых губ и относительной гипертрофии клитора (Алямовская и др., 2015).

Нервная система недоношенных новорожденных крайне слаба, физиологические рефлексы быстро угасают. В случае крайней степени незрелости может отсутствовать сосательный и глотательный рефлексы. Реакция на раздражители обычно замедленная. Недоношенным детям свойственно несовершенство терморегуляции и мышечная гипотония (Володин 2007).

У недоношенных детей часто происходит кровоизлияния в латеральные стенки боковых желудочков (Аванесян 2009; Шабалов 2013). Это связано прежде всего с тем, что мозг недоношенного ребенка отечный, консистенция его студенистая, дифференцировка белого и серого вещества затрудненная, рисунок извилин нечеткий. Под эпиндимой боковых желудочков имеется слой герминального матрикса – мозговых клеток нейрологии, способных к размножению и миграции. Здесь же расположены

крупные синусоидные сосуды. Их стенки тонкие, имеют один слой эндотелиальных клеток. Эти сосуды почти под прямым углом продолжаются в вену Галена, а затем в синусы твердой мозговой оболочки.

Для сердечно-сосудистой системы, в отличие от других функциональных систем, характерна относительно хорошая степень развития. Формирование данной системы происходит на ранних стадиях онтогенеза. Однако несмотря на хорошую степень развития, частота пульса у недоношенных детей очень лабильна, пульс слабого наполнения около 120-180 уд/мин. Частым явлением может быть сохранение эмбриональных шунтов, таких как открытого овального окна или же открытого артериального протока. Артериальное давление у недоношенных детей по сравнению с доношенными более низкое. Адренергический ответ новорожденного напрямую связан со степенью его зрелости. Созревание адренергической иннервации происходит между 18-й и 28-й неделями. Чем меньше гестационный возраст новорожденного, тем меньше у него запасов норадреналина (Huysman et al., 2000). Присутствует повышенная проницаемость, хрупкость и ломкость кровеносных сосудов, что объясняется плохим развитием в сосудистой системе эластической ткани. Именно поэтому необходима инотропная поддержка на всех этапах оказания неотложной помощи при выхаживании недоношенных младенцев.

Незрелостью характеризуются все органы и системы ребенка. Со стороны дыхательной системы, в первую очередь, осложнения для жизни ребенка вносит дефицит сурфактанта. У недоношенных детей в альвеолах количество сурфактанта минимальное, порой он отсутствует вовсе, что приводит к ателектазированию легких в первые часы после рождения. Часто наблюдается образование гиалиновых мембран (БГМ).

У новорожденных с массой тела до 1500 г только к 3-4-месячному возрасту дыхание становится регулярным, равномерным по частоте и амплитуде. К этому возрасту выравнивается соотношение фаз вдоха и

выдоха. У детей с массой тела выше 1500 г дыхание становится регулярным уже к трехнедельному возрасту (Володин, 2007).

Со стороны системы терморегуляции, вследствие незрелости регуляционных механизмов, дети легко переохлаждаются и перегреваются. Последнее связано с повышенной теплоотдачей на фоне сниженной теплопродукции. Перегреванию в большей степени способствует недоразвитие потовых желез.

Со стороны желудочно-кишечного тракта недоношенные чаще других подвержены регургитации и срыгиваниям, которые появляются в связи с недоразвитием мышц кардиальной части желудка, а также с более вертикальным его положением и малым объёмом заполнения. Желудочный сок обладает низкой протеолитической активностью, присутствует недостаточная выработка панкреатических и кишечных ферментов. Все эти особенности затрудняют формирование адекватных процессов пищеварения и всасывания у новорожденных и могут приводить к развитию дисбактериоза и метеоризма. У 2/3 недоношенных детей, даже находящихся на естественном вскармливании, имеется дефицит бифидофлоры кишечника. Дефицит бифидобактерий ведет к снижению колонизационной резистентности кишечника и носительству условно-патогенной флоры (Володин, 2007).

Со стороны работы мочевыделительной системы минеральный и водный обмен у детей нестабилен, поэтому недоношенным в одинаковой степени свойственно как формирование отёков, так и обезвоживание. Почки начинают функционировать уже во внутриутробный период развития, однако основная их активизация происходит в период новорожденности.

Почки участвуют в важнейших процессах жизнедеятельности организма, таких как поддержание осмотического равновесия, кислотно-щелочного и ионного баланса, а также в регуляции количества натрия и воды. Недоразвитость клубочков и канальцев у глубоко недоношенных детей приводит к снижению фильтрационной способности, что проявляется в виде

сниженного темпа диуреза, задержки воды на фоне слабого выведения ионов натрия и хлора, что, в свою очередь, приводит к развитию отёков (Володин, 2007).

Эндокринные проблемы работы организма недоношенного ребенка, как правило, возникают из-за нарушения взаимосвязи гипофиза, щитовидной железы и надпочечников. Надпочечники у новорожденного недоношенного активны, но быстро истощаются, особенно при развитии экстремальных ситуаций. Функциональная и морфологическая незрелость надпочечников способствует быстрому истощению и появлению клиники острой надпочечниковой недостаточности, которая может быстро привести к некрозу паренхиматозных клеток и кровоизлиянию в оба надпочечника.

Метаболизм у новорожденных недоношенных замедлен. В первые дни чаще развивается метаболический ацидоз в сочетании с компенсаторным сдвигом в сторону респираторного алкалоза. У недоношенных детей часто развиваются гипогликемия, гипокальциемия, гипомагниемия, гипербилирубинемия.

Зрительный анализатор у недоношенных развивается медленнее, чем у доношенных детей. Сосуды сетчатки в своем диаметре равномерно уменьшаются от диска зрительного нерва к периферии. В 22% случаев диаметр вен и артерий уменьшен. Изолированное сужение артерии наблюдается в 36% случаев, полнокровные вены наблюдаются только в 21%. У доношенных и недоношенных детей соотношение сосудов равнозначное. Чем больше степень незрелости, тем более стушеваны границы диска зрительного нерва. Макула ещё не развита. Сетчатка в области макулы толще, кольцевой макулярный рефлекс отсутствует. Макулярный рефлекс формируется у глубоко недоношенных детей в 3-3,5 месяца после рождения, у детей со сроком гестации 29-30 недель – в 2,5-3 месяца, у детей 31-32 недель – в 1,5-2 месяца, у 33-34-недельных – не отличается от доношенных и составляет 1-2 месяца (Раджабова и др., 2018).

1.3. Инотропные и вазопрессорные препараты, применяемые у новорожденных

Инотропные и вазопрессорные препараты часто используются в отделении реанимации новорожденных, их эффекты реализуются через девять разных аденорецепторов (α_1A , B, D, α_2A , B, C, β_1 , β_2 , β_3) (Brodde, 2008). Клинически значимыми в настоящее время являются α_1 -, α_2 -, β_1 - и β_2 -рецепторы. α_1 - и β_1 -рецепторы располагаются в большей степени на постсинаптических мембранах, они отвечают за взаимодействие с норадреналином, который выделяется из нервных окончаний постганглионарных нейронов симпатического отдела.

Внесинаптическими являются α_2 - и β_2 -рецепторы, которые присутствуют также и на пресинаптической мемbrane тех же нейронов. α_2 -рецепторы подвержены воздействию как адреналина, так и норадреналина. β_2 -рецепторы чувствительны, в основном, к адреналину.

Норадреналин действует на α_2 -рецепторы по принципу отрицательной обратной связи, то есть ингибитирует собственное выделение. Адреналин, влияя на β_2 -адренорецепторы пресинаптической мембраны, усиливает образование норадреналина.

Обратная положительная связь возникает в связи с тем, что адреналин образуется в мозговом слое надпочечников под действием норадреналина.

α_1 -рецепторы располагаются в артериолах, их стимуляция провоцирует спазм артериол, повышение артериального давления, снижение сосудистой проницаемости и уменьшается эксудативного воспаления (Minneman, Esbenshade, 1994).

α_2 -рецепторы – это пресинаптические рецепторы для адренергической системы. Они являются петлёй обратной отрицательной связи. Их стимуляция ведёт к снижению артериального давления.

β_1 -рецепторы находятся в сердце, их активация вызывает увеличение частоты и силы сердечных сокращений, повышает потребность миокарда в

кислороде и повышает давление. $\beta 1$ -адренорецепторы также располагаются в почках и являются рецепторами юкстагломерулярного аппарата.

$\beta 2$ -рецепторы обнаруживаются в бронхиолах. Данный тип рецепторов при стимуляции оказывает бронхолитическое действие в виде расширения бронхиол и купирования бронхоспазма. Рецепторы данного типа также находятся на клетках печени, участвуют в гликогенолизе (Молостова, 2017).

В сетчатке зарегистрированы все типы адренорецепторов: $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, $\beta 1$ -, $\beta 2$ -, $\beta 3$ - (Ruan et al., 2020). $\alpha 1$ -адренорецепторы локализованы преимущественно в сосудах сетчатки, во внешнем пlexiformном слое сетчатки крысы и пигментном эпителии сетчатки крупного рогатого скота, кролика, мыши и человека, где они модулируют транспорт K^+ и Cl^- и электрические токи (Bohmer, Manicam, 2014). β -адренорецепторы локализованы практически во всех слоях сетчатки и играют важную роль в функционировании сосудов и нейронов сетчатки (Ruan et al., 2020).

Характерный для взрослых набор мембранных рецепторов у новорожденных обретается постепенно. При этом у новорожденных, как и у плода, чувствительность к катехоламинам не только снижена, но может иметь обратный эффект по причине слабого развития β -адренорецепторов.

Адреналин, помимо отсутствия влияния на сердце новорожденного, может также снижать частоту сердечных сокращений. У детей в нервной регуляции сердца адренергические механизмы преобладают над холинергическими, с возрастом это соотношение меняется. Регуляция рефлекторной деятельности сердца у новорожденных может быть, но её проявления слабы и непостоянны.

В условиях отделения реанимации новорожденных применяют следующие виды инотропных и вазопрессорных препаратов: добутамин, дофамин, адреналин и норадреналин (Ward, Lugo, 2005; Миткинов 2017; Dempsey, Rabe 2019). Данные препараты могут применяться как в виде монотерапии, так и в различных комбинациях друг с другом (Rios et al., 2014; Wu, Noori, 2021). Чем меньше степень зрелости ребенка, тем выше

вероятность потребности в применении инотропной и вазопрессорной терапии (Batton, Riggs, 2007; Laughon et al., 2007).

Наиболее часто у новорожденных первой ступенью лечения нарушений гемодинамики является дофамин (Subhedar, Shaw 2000; Stranak et al., 2014). Он в малых и средних дозах (2-10 мкг/кг/мин) оказывает влияние на постсинаптические $\beta 1$ -адренорецепторы, что вызывает положительный инотропный эффект и приводит к повышению минутного объема крови. Повышается систолическое и пульсовое артериальное давление, диастолическое артериальное давление остается без изменений, либо незначительно повышается. Общее периферическое сосудистое сопротивление обычно не изменяется. Увеличивается коронарный кровоток и потребность миокарда в кислороде. Высокие дозы дофамина (10 мкг/кг/мин или больше) стимулируют $\alpha 1$ -адренорецепторы, приводя к повышению общего периферического сосудистого сопротивления, увеличению частоты сердечных сокращений и сужению почечных сосудов. Артериальное давление, как систолическое, так и диастолическое, повышается на фоне увеличения минутного объема крови и повышения ОПСС (Шмаков, 2001).

В последние годы исследования негативных свойств дофамина становятся актуальнее. Выявлено, что повышение артериального давления происходит в основном за счет повышения общего сосудистого сопротивления (Seri, 2006 a, b), при этом не происходит улучшения эхокардиографических показателей сердечного выброса и системного кровотока (Osborn et al., 2002).

Добутамин реализует свое инотропное действие через $\beta 1$ -адренорецепторы. Он оказывает положительное инотропное действие, которое связано с увеличением тока кальция через мембрану внутри кардиомиоцитов (Гиляров, 2008). Следствием бета-адренергической стимуляции и активации G-протеин аденилатциклазы в кардиомиоцитах увеличивается содержание цАМФ. Увеличивается ударный и минутный объем, повышается частота сердечных сокращений, снижается конечное

диастолическое давление в левом желудочке, уменьшается сосудистое сопротивление малого круга кровообращения, а также общее периферическое сосудистое сопротивление (Subhedar, Shaw, 2003). Уменьшается давление наполнения желудочков сердца, при этом коронарный кровоток улучшается, что приводит к повышению скорости доставки кислорода к ткани миокарда (Ruffolo, Yaden 1983; Еременко, 2009).

Адреналин оказывает прямое стимулирующее действие на α - и β -адренорецепторы. В малых дозах (0,05-0,3 мкг/кг/мин) оказывает β -эффект, а в высоких (0,3-5 мкг/кг/мин) – α -эффект (Крючко и др., 2016а). На фоне стимуляции α -адренорецепторов увеличивается количество внутриклеточного кальция в гладких мышцах. Стимуляция $\alpha 1$ -адренорецепторов приводит к повышению активности фосфолипазы С и получению на выходе инозитолтрифосфата и диацилглицерола. Далее кальций высвобождается из депо саркоплазматического ретикулума. При стимуляции $\alpha 2$ -адренорецепторов кальциевые каналы открываются и происходит увеличения входа кальция в клетки. При воздействии на $\beta 1$ -адренорецепторы, которые располагаются в тканях сердца, увеличивается содержание внутриклеточного кальция. На фоне воздействия на $\beta 2$ -адренорецепторы уменьшается количество свободного внутриклеточного кальция в гладких мышцах, а также вызывает сокращение гладкомышечных клеток дыхательных (Deeney et al., 2022).

Под действием адреналина увеличится частота и сила сердечных сокращений, ударный и минутный объем сердца. Повышается автоматизм и AV-проводимость. Потребность миокарда в кислороде возрастает. Применение адреналина приводит к сужению сосудов органов брюшной полости, кожи, слизистых оболочек, а также скелетных мышц. Главным образом повышается систолическое артериальное давление, в высоких дозах повышает ОПСС. Вазопрессорный эффект может вызвать кратковременное рефлекторное замедление ЧСС.

Адреналин приводит к расслаблению гладких мышц бронхов, снижает тонус и моторику желудочно-кишечного тракта, расширяет зрачки, снижает внутриглазное давления. Применение адреналина приводит к гипергликемии и повышению содержания в плазме свободных жирных кислот (VIDAL).

Норадреналин оказывает мощное стимулирующее действие на α -адренорецепторы периферических сосудов и β -адренорецепторов сердца (Joynt, Cheung, 2018). Он приводит к выраженной периферической вазоконстрикции на фоне α -адреномиметического эффекта. Положительное инотропное действие и расширение коронарных артерий происходит на фоне β -адреномиметического эффекта.

Норадреналин увеличивает давление в аорте, происходит расширение коронарных артерий, увеличивается коронарный кровоток, улучшается оксигенация миокарда. Венозный возврат увеличивается, что способствует нормализации сердечного ритма и частоты сердечных сокращений.

Повышение артериального давления может вызвать рефлекторное снижение частоты сердечных сокращений. Вазоконстрикция может привести к снижению кровотока в почках, печени, коже и гладких мышцах. Локальная вазоконстрикция может вызвать гемостаз и/или некроз тканей (РЛС).

Норадреналин применяется у доношенных новорожденных с артериальной гипотензией при наличии рефрактерного шока, низкого уровня сердечного выброса, а также при тяжелой септицемии или кардиологических операциях (Rizk et al., 2018; Dempse, Rabe, 2019). Ряд исследований показывает связь инотропной терапии с внутрижелудочковыми кровоизлияниями у новорожденных детей (Evans 2006 b, c; Faust et al., 2015; Batton et al., 2016).

Учитывая все нежелательные побочные эффекты от данных препаратов и несмотря на большой опыт использования их у недоношенных новорожденных с ЭНМТ, их применение на данный момент времени нельзя назвать безопасным и эффективным на длительной дистанции (Evans et al., 2006a).

С целью коррекции артериальной гипотензии также возможно применение гормональной терапии гидрокортизоном и дексаметазоном. Есть данные, подтверждающие эффективность применения гормональной терапии при сохраняющейся артериальной гипотонии на фоне уже проводимой инфузии адреналина (Subhedar et al., 2007).

Однако длительное применение глюкокортикоидов нельзя назвать безопасным, так как одним из основных побочных эффектов применения гормонов является увеличение частоты развития некротических энтероколитов и перфораций полых органов у недоношенных (Seri, 2006 b).

В условиях органотипического культивирования ткани с применением лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, впервые было доказано, что клетки зоны роста эксплантатов ткани сердца и кости формируют многомерную структуру и содержат $\beta 1$ -адренорецепторы. Было обнаружено, что катехоламины могут оказывать трофотропный эффект на ткань сердца, который опосредован при участии $\beta 1$ -адренорецепторов. В отличие от адреналина, норадреналин оказывал остеостимулирующий эффект. Стимуляция β -адренорецепторов под воздействием норадреналина не связана с его трофотропным действием. Остеоингибирующий эффект катехоламинов основан на взаимодействии с $\beta 2$ -адренорецепторами. Получены новые данные об участии медиаторов симпатической нервной системы и кардиотонических стероидов в эндогенных концентрациях в регуляции процессов кардио- и остеоремоделирования в период эмбриогенеза. Проведенные исследования показали, что катехоламины рецептор-опосредованно модулируют трансдукторную функции Na^+ , K^+ -АТФазы (Пасатецкая и др., 2017).

1.4. Метаболический ацидоз

Метаболический ацидоз это патологическое состояние, во время которого происходит увеличение концентрации протонов ($[\text{H}^+]$) в клетках и внеклеточной жидкости, а также снижение в них содержания бикарбонатного аниона HCO_3^- (Шанин, 1996). Это состояние, с которым сталкиваются

детские реаниматологи в первые часы и дни жизни новорожденных детей, является осложнением шокового состояния и одной из причин инвалидизации в постнатальном периоде. Данное состояние приводит к уменьшению ударного и минутного объема крови на фоне снижения сократительной функции миокарда, а также к уменьшению чувствительности сердечно-сосудистой системы к воздействию препаратов с инотропной и вазопрессорной активностью (Marsiglia et al., 1973; Orchard et al., 1990; Adrogui et al., 1998; Berger et al., 1999; Levy, 2006; Otter, Austin, 2000; Ma et al., 2021). При длительном метаболическом ацидозе происходит митохондриальная дисфункция, а также миокардиодистрофия (Альфонсова, Забродина 2013). При метаболическом ацидозе происходит и снижение общего периферического сопротивления сосудов, нарушается перфузия микроциркуляторного русла, появляется компенсаторное тахипноэ, легочная гипертензия. Меняется реология крови (Kaplan, Frangos, 2004). В зоне кровообращения желудочно-кишечного тракта и почек происходит спазм артериол с проявлениями в виде ухудшения моторной функции кишечника и снижением темпа диуреза, возникает гиперкалиемия и повышается содержание натрия внутри клетки (Bersentes, Simmons 1967; Madias, 1986; Forsythe, Schmidt, 2000).

Ацидоз может провоцировать возникновение аритмии по типу *re entry*, а также может приводить к развитию фибриляции желудочков (Orchard, Cingolani, 1994).

Есть исследования, показывающие влияние метаболического ацидоза на селезенку, в которой возникали отек, деструкция капсулы, подкапсулярных трабекул, аргирофильного каркаса, делимфатизация паренхимы, зависящие от глубины и продолжительности ацидоза (Альфонсова, Бочкарникова 2011).

При ацидозе на фоне снижения активности пневмоцитов II порядка уменьшается синтез эндогенного сурфактанта (Handy, Soni 2008; Oh et al., 2019; Маричев, 2020). Увеличивается риск развития судорожного синдрома,

кривая диссоциации оксигемоглобина смещается вправо, что приводит к уменьшению сродства гемоглобина эритроцитов к кислороду. Возникает нарушение мозгового кровообращения и развитие внутрижелудочных кровоизлияний (Афанасьев, 2005).

Необходимо отметить, что поражения ЦНС в перинатальном периоде способствуют появлению ранней психоневрологической инвалидизации. Ранняя детская инвалидность выявлена в 60-70% случаев (Ковальчук и др., 2018).

Ткань сетчатки также является критически чувствительной к метаболическому ацидозу, так как сетчатка является тканью с высокой метаболической потребностью, поэтому любое нарушение гемодинамики сетчатки играет ведущую роль в патогенезе ряда глазных болезней.

Наружная часть сетчатки, в которой расположены фоторецепторные клетки, в физиологических условиях имеет относительно кислый рН. При остром метаболическом или респираторном ацидозе происходит дальнейшее закисление сетчатки и изменение ответа фоторецепторов на свет, что указывает на изменение функций клеток в условиях ацидоза (Dreffs et al., 2018). В настоящее время предполагается, что нарушение кислотно-основного гомеостаза может являться фактором риска развития такого инвалидизирующего состояния как ретинопатия недоношенных (Holmes et al., 1999; Berdahl et al., 2005).

Системный ацидоз вызывает преретинальную неоваскуляризацию, аналогичную ретинопатии недоношенных у новорожденных крыс. Исследования по оценке эффективности введения бикарбоната для коррекции неоваскуляризации сетчатки показали, что, хотя развивающийся в ходе терапии алкалоз снижал частоту преретинальной невропатии, лечение было связано с высоким уровнем смертности (Berdahl et al., 2005).

Метаболический ацидоз лабораторно проявляется в виде дефицита уровня BE. BE (Base Excess) – рассчитанный дефицит или избыток оснований, т.е. то количество сильного основания или кислоты, которое

необходимо, чтобы вернуть рН к норме при $\text{PaCO}_2 = 40$ мм. рт. ст. и температуре 37°C . Положительная величина ВЕ свидетельствует о дефиците некарбоновых кислот и о потере ионов водорода. Отрицательная величина ВЕ говорит об относительном избытке некарбоновых кислот и приросте ионов водорода, измеряется в ммоль/л. В норме ВЕ = $+/- 2,0$ ммоль/л. Отрицательное значение ВЕ указывает на дефицит оснований или избыток кислот, положительное значение ВЕ – на избыток оснований или дефицит кислот (Тепаев и др., 2016).

Основная терапия метаболического ацидоза направлена на лечение основного заболевания, которое и провоцирует развитие метаболических нарушений.

Основным препаратом при коррекции метаболического ацидоза является применение раствора NaHCO_3 (гидрокарбоната натрия). Данный раствор позволяет компенсировать дефицит оснований и избежать осложнений, связанных с пролонгированной декомпенсацией организма во время метаболических нарушений (Gullans, Verbalis 1993; Беляевский, Монченко, 1997; Чупров, Стемпковский, 2008; Харкевич 2015).

Однако длительное применение гидрокарбоната натрия у новорожденных детей с острым шоковым состоянием может вызвать тяжелую гипернатриемию, а также может приводить к повышению внутричерепного давления, что способствует развитию отека головного мозга, поэтому применение данного раствора требует четкого постоянного контроля кислотно-щелочного и общего состояния ребенка.

Некоторые исследования говорят, что во время применения гидрокарбоната натрия у больных с лактатацидозом не происходит улучшения гемодинамических показателей, а именно ЧСС, ЦВД, SvO_2 системной доставки кислорода к тканям, артериального давления, сердечного выброса. Кроме того, не отмечается повышения чувствительности к катехоламинам (Fuhrman et. al., 2006).

В отличие от гипернатриемии у взрослого человека грубое нарастание содержания натрия в крови у детей приводит к развитию серьезных неврологических расстройств. Умственная отсталость, а также очаговые неврологические дефекты, такие как пара- и гемиплегии, являются частыми последствиями гипернатриемии у детей (Büyükkaragöz, Bakkaloglu, 2023).

В связи с вышеописанными негативными эффектами агрессивной защелачивающей терапии для минимизации использования растворов, содержащих натрий, встает вопрос поиска дополнительных средств коррекции метаболических нарушений у новорожденных, которые можно было бы применять комбинированно или же отдельно от стандартных способов коррекции метаболических расстройств.

Исследования, описанные в работе Виноградовой И.В. и соавторов, указывают на то, что серьезные перспективы имеют препараты, содержащие сукцинат, в частности, цитофлавин (Виноградова и др., 2016). Преимущества сукцината над другими субстратами клеточного дыхания проявляются при гипоксии, когда происходит нарастание скорости окисления и продукции эндогенного сукцината. Он может влиять на метаболизм тканей и клеток организма, изменяя белковый синтез, ионный транспорт и клеточное дыхание (Лазарев, Гадомский, 2016).

Фармакологический эффект цитофлавина обусловлен комплексным действием компонентов, входящих в состав препарата: янтарная кислота, рибофлавин (витамин B2), никотинамид (витамин PP) и инозин (VIDAL, 2023). Все компоненты цитофлавина являются естественными метаболитами организма и стимулируют тканевое дыхание. Практические аспекты использования цитофлавина у новорожденных в тяжелых и критических состояниях изучены недостаточно, а исследования эффективности цитофлавина для нормализации кислотно-основного состояния немногочисленны, основаны на малых выборках пациентов и посвящены, в основном, применению препарата в неврологии и нейрохирургии как компонент комплексной терапии гипоксически-ишемического и

постгеморрагического поражения ЦНС (Федин и др., 2005; Скворцова и др., 2006; Ключева, 2008).

В условиях поражения мозга цитофлавин снижает скорость падения количества АТФ, восстанавливает аэробный гликолиз и препятствует разрушению клеточных мембран свободными радикалами (Лазарев и др., 2003; Федин и др., 2004; Болевич и др., 2010).

Часть исследований показывают, что цитофлавин способен оказывать нейро- и церебропротективный эффект при лечении детей с гипоксически-ишемическими и гипоксически-геморрагическими поражениями ЦНС. Также есть исследования, доказывающие кардиопротективное действие данного препарата, что дает основание для его применения в терапии новорожденных детей первых дней жизни с расстройствами нейрометаболизма в рамках комплексного лечения перинатальных поражений (Антонов и др., 2010; Савченко и др., 2019). Препарат обладает быстрым пробуждающим действием при посленаркозном угнетении сознания (Шилов и др., 2011).

Показано, что в группе недоношенных новорожденных с постгипоксическими повреждениями ЦНС, получавших цитофлавин, была отмечена достоверно более быстрая нормализация показателей кислотно-основного состояния, газового состава крови и устранение лактатацидоза. Этому соответствовало снижение тяжести и частоты развития ишемических и геморрагических поражений ЦНС по сравнению с детьми контрольной группы (Рогаткин и др., 2011).

В результате ретроспективного анализа эффектов включения цитофлавина в схему комплексной терапии новорожденных (доношенных и недоношенных) с церебральной ишемией II–III степени отмечена положительная тенденция купирования метаболического ацидоза в виде уменьшения дефицита оснований и повышения рН (Кирьяков и др., 2018).

Имеются указание на возможные цитопротекторные свойства препарата при повреждении миокарда (Карташова, 2009; Ромашенко, 2021).

Цитопротекторные свойства цитофлавина в условиях ацидоза не исследованы.

Биохимически сукцинат, входящий в состав цитофлавина, является субстратом шестой и продуктом пятой реакции в цикле Кребса. Для поддержания жизнедеятельности организму необходимо образование энергии, которое тесно связано с преобразованием янтарной кислоты.

В большей степени поддержка работы организма осуществляется за счет окисления янтарной кислоты. На фоне дотации янтарной кислоты в составе цитофлавина и при использовании инфузионной терапии были выявлены следующие эффекты: прямое действие янтарной кислоты на процессы метаболизма в клетке и влияние янтарной кислоты на транспорт свободного кислорода в ткани (Оболенский, 2003).

При гипоксии проявляются основные преимущества сукцината над другими субстратами клеточного дыхания, когда происходит нарастание скорости окисления и продукции эндогенного сукцината. Сукцинат может влиять на метаболизм тканей и клеток организма, а именно белковый синтез, ионный транспорт и клеточное дыхание (Оболенский, 2003).

Цитопротекторные свойства цитофлавина детально исследованы в работах Дерюгиной и соавторов (Shumilova et al., 2018; Дерюгина и др., 2016; Polozova et al., 2021). Лактатную модель гипоксического состояния авторы моделировали инкубацией эритроцитов при 37°C в течение 30 мин с 10 мМ/л раствором молочной кислоты, что соответствует концентрации, имитирующей умеренный ацидоз (Boning et al., 1989). В качестве контрольных использовали клетки, которые инкубировали с физиологическим раствором. Исследование влияния цитофлавина (1×10^{-4} мл/мл эритроцитов) на эритроциты осуществляли с помощью их инкубации в присутствии цитофлавина в течение 30 мин. Инкубация эритроцитов с цитофлавином приводила к росту электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) и уменьшению агрегации эритроцитов. При

инкубировании эритроцитов с молочной кислотой зарегистрировано существенное снижение концентрации АТФ.

В других экспериментальных условиях авторами обнаружено, что в посттравматическом периоде после черепно-мозговой травмы у крыс наблюдается инактивация Na/K-АТФазы, (Deriugina, Shumilova, 2017). Окислительный стресс, лактоацидоз и гиперадреналемия приводили к снижению ЭФПЭ, увеличению их агрегации на фоне развития энергодефицита. При внутрибрюшинном введении цитофлавина к третьим суткам эксперимента зарегистрировано восстановление электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) до значений интактной группы и сохранение на этом уровне до конца эксперимента. Доказано, что применение цитофлавина способствует повышению ЭФПЭ, снижению концентрации малонового диальдегида, АТФ и агрегации эритроцитов (Дерюгина и др., 2021; Shumilova et al., 2018a; Shumilova et al., 2018b).

В ходе интенсивной терапии, оказываемой новорожденному, основной задачей является не только стабилизация жизненно-важных показателей с тем, чтобы добиться эффекта здесь и сейчас, но и обдуманное применение всех фармакологических препаратов с целью улучшения качества жизни пациента на всех этапах его развития. Важно разработать модель ацидоза *in vitro*, которая позволит оценить цитопротекторный эффект изучаемых веществ и его механизм на значительном экспериментальном материале в краткий промежуток времени в строго контролируемых условиях.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Клиническая часть исследования №1

2.1.1. Характеристика участников исследования

Объектами первого этапа исследования были новорожденные с поставленным диагнозом ретинопатия новорожденных или с рисками развития данного заболевания, находящиеся на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных №39а СПбГБУЗ «ДГМКСЦВМТ» за период с 2021 по 2023 годы.

Из анализа были исключены доношенные дети, дети с задержкой внутриутробного развития, дети, находившиеся в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных меньше трех дней, дети с летальным исходом. Всего было исключено 20 пациентов. В исследование вошли 40 недоношенных детей с разным сроком гестационного возраста и установленным диагнозом ретинопатия новорожденных, а также дети с рисками развития данного заболевания. Оперативное вмешательство было проведено 6 пациентам. Во вторую часть исследования были включены 27 новорожденных с максимальным риском развития ретинопатии с экстремально низкой массой тела и гестационным возрастом менее 32 недель.

2.1.2. Методы исследования

В ходе работы проводили лечение новорожденных по основным заболеваниям, использовали клинико-лабораторный и инструментальный методы, а также статистический анализ.

С помощью Медицинской информационной системы qMS рассчитывали количество кислорода, которое каждый пациент получал в ходе лечения. Статистическую обработку результатов проводили с помощью

коэффициента ранговой корреляции Спирмена с привлечением языка программирования R в программе STATISTICA 10.0.

2.1.2.1. Анализ интенсивной терапии у новорожденных

Все дети, поступившие в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных, получали лечение согласно порядку оказания медицинской помощи по профилю "Аnestезиология и реаниматология" (утв. приказом Министерства здравоохранения РФ от 15 ноября 2012 г. N 919н) и "Неонатология" (утв. приказом Министерства здравоохранения РФ от 15 ноября 2012 г. N 921н), а также согласно клиническим рекомендациям министерства здравоохранения Российской Федерации по анестезиологии-реаниматологии и неонатологии.

При поступлении ребенка на отделение оценивали анамнез матери и течение беременности, анализировали клиническую картину состояния ребенка в родильном доме, а также проводили осмотр новорожденного, рентгенологические и ультразвуковые исследования.

В зависимости от каждого индивидуального случая, согласно внутренним протоколам отделения, проводили терапию шоковых состояний путем использования препаратов для стабилизации центральной гемодинамики (адреналин, норадреналин, дофамин, добутамин). В зависимости от степени дыхательной недостаточности осуществляли респираторную поддержку.

При необходимости назначали антибактериальную терапию. По показаниям корректировали систему гемостаза: проводили гемо- и плазмотрансфузии, а также трансфузии тромбоконцентрата. В зависимости от состояния ребенка назначали энтеральное питание. В случае острой хирургической патологии проводили подготовку детей к хирургическим вмешательствам.

По мере стабилизации состояния вектор лечения смешался от экстренной терапии критических состояний на обеспечение нормализации

работы всех пострадавших органов и систем ребенка. После восстановления собственной сердечной деятельности ребенка выполняли постепенную отмену инотропной терапии. По мере восстановления регулярного и эффективного самостоятельного дыхания осуществляли изменение респираторной поддержки в сторону менее инвазивной и более физиологичной. Обеспечивали начало и расширение энтерального питания, необходимого для восстановления работы ЖКТ и для обеспечения адекватного калоража и весовых прибавок у недоношенных пациентов. На фоне компенсации ребенка по инфекционному статусу постепенно отменяли рациональную антибактериальную терапию. При необходимости проводили консультации и совместное лечение детей с другими узконаправленными специалистами: неврологами, неонатальными хирургами, нейрохирургами, офтальмологами, ЛОР-врачами, клиническими фармакологами. По истечении длительного лечения на фоне стабилизации всех основных витальных функций детей переводили в отделение патологии новорожденных.

Оценку кислородозависимости пациентов и показатель SvO_2 (венозная сатурация крови) проводили в приложении Медицинская информационная система qMS, рассчитывая количество кислорода, который каждый пациент получал в ходе лечения.

Параметры венозной сатурации у всех пациентов были в пределах нормативных и возрастных показателей. Так как отклонения венозной сатурации чаще происходят при истощении организма и включения компенсаторных путей потребления кислорода, а оценка артериальной сатурации как более динамичного показателя невозможна ввиду трудности постановки катетера у недоношенных детей, в дальнейшем анализе этот показатель решено было не учитывать.

2.1.2.2. Клинико-лабораторный и инструментальный метод

Во время нахождения и лечения в отделении реанимации всем новорожденным детям назначали исследование биохимического состава крови, клинического анализа крови, коагулограммы, проводили оценка кислотно-щелочного равновесия крови, ПЦР-диагностики, брали посевы различных сред организма, выполняли инструментальные исследования (эхокардиографическое исследование, нейросонография, узи органов брюшной полости, почек, плевральных полостей, рентгенография органов грудной и брюшной полости). Офтальмологические исследования проводили строго при достижении ребенком постконцептуального возраста и далее раз в 7 дней после начала осмотров.

2.1.2.3. Анализ факторов риска

Первые 40 детей были разделены на 3 группы в зависимости от тяжести ретинопатии. Группа А – 6 человек, все из которых были прооперированы и имели диагноз ретинопатия 3 стадии. Группа В – 23 человека с диагнозом ретинопатия 1 и 2 стадии. Группа С – 11 человек с сетчаткой на стадии васкуляризации.

Следующие 27 детей (срок гестации менее 29 недель) аналогично были разделены на 3 группы: дети с тяжелыми формами ретинопатии, которые подверглись оперативному лечению, дети с диагнозом, но на стадии консервативного лечения, и дети без заболевания.

Среди детей первой группы адреналин получали 81%, норадреналин – 27%. Среди второй группы новорожденных 38% получали адреналин, 19% норадреналин. Среди третьей группы пациентов адреналин и норадреналин в терапии не применяли.

В качестве предполагаемых ведущих факторов риска развития ретинопатии новорожденных выделены: степень оксигенации, количество гемотрансфузий, гестационный возраст, наличие инотропной поддержки

препаратами группы биогенных аминов в ходе лечения. Дополнительно рассматривались следующие критерии: количество часов искусственной вентиляции легких (ИВЛ), вес, инфекционный статус, наличие внутриутробных фетальных коммуникаций, анализ венозной сатурации, степень перенесенной асфиксии в родах (если она была). Каждому пациенту присваивали индивидуальный код, после чего его данные заносили в таблицы и анализировали.

Статистический анализ проводили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена с привлечением языка программирования R. Результаты представлены как $M \pm m$.

2.2. Экспериментальная часть исследования

2.2.1. Характеристика объектов исследования

2.2.1.1. Морфология сетчатки в эмбриогенезе

Исследование проводилось на сетчатке куриного эмбриона, так как куры относятся к выводковым птицам, им свойственно зрелорождение, бинокулярное цветное зрение. Строение сетчатки птиц обеспечивает взаимодействие между клетками-фоторецепторами для создания зрительного образа. Сетчатка у птиц значительно толще, чем у других животных, элементы сетчатки четко организованы, резко отграничены чувствительные слои (Дмитриева и др., 2020).

Зрительный анализатор птиц напрямую связан с их продуктивностью. Показано, что благодаря подаче света в определенные часы можно регулировать образ жизни птиц. Доказано влияние света на созревание яиц, рост птенцов и наступление половой зрелости. Свет регулирует процессы созревания в организме птиц, в основном, за счет влияния на зрительный анализатор (Дмитриева и др., 2017; Дмитриева и др., 2018).

Сетчатка глаза куриного эмбриона является уникальным экспериментальным объектом, так как содержит все типы клеток, которые

находятся в сетчатке человека. Гестационный возраст 10-12-дневного куриного эмбриона соответствует 19-24 неделе пренатального развития человека. В период эмбриогенеза ткань сетчатки формируется путем регуляции координации пролиферации клеток-предшественников различными нейротрансмиттерами, включая моноамины (Martins, Pearson, 2008).

Гистологически сетчатка куриного эмбриона представляет собой цепочку из трех нейронов: 1) внешняя – фоторецептор (палочки, колбочки); 2) среднеассоциативная; 3) внутренняя – ганглионарная. В целом они образуют 10 слоев сетчатки: пигментные и фоторецепторные слои, наружная глиальная пограничная мембрана, наружный ядерный, наружный сетчатый, внутренний ядерный, внутренний сетчатый, ганглиозный слой, слой нервных волокон, внутренняя глиальная пограничная мембрана. На гистологических срезах, исследованных на 13-е сутки развития глаза куриного эмбриона, отчетливо видны сформированные 10 слоев сетчатки (Дмитриева и др., 2020; Козловская и др., 2019).

2.2.1.2. Морфология сердца в эмбриогенезе

Трубчатое сердце описано у куриных эмбрионов после 29 часов инкубации. Появление неупорядоченных миозиновых филаментов в цитоплазме миобластов зарегистрировано в 33 часа инкубации (Manasek 1968). Трубчатое сердце 2-х суточного куриного эмбриона состоит из разделенных кардиогелем миокарда и эндокарда. Пейсмекеры и проводящая система сердца не развиты, но оно активно сокращается (Pennisi et al., 2003). Атриовентрикулярное кольцо формируется на 3-и сутки эмбриогенеза (Martensen, 2005). С 6-х суток инкубации до 2-х суток постнатального онтогенеза количества миофибрилл увеличивается в семь раз (Крамарь, 1995). Высокоактивные митохондрий и митохондрии с расширенными, малочисленными кристами и слабоконтрастным матриксом появляются на 8-е сутки (Крамарь, 1995). Одновременно с развитием митохондриального и

миофибриллярного аппаратов происходит накопление гранул гликогена в цитоплазме кардиомиоцитов (Khloponin, 1976). Компактный миокард появляется к концу пренатального периода (Крамарь, 1995). В поверхностных слоях миокарда кардиомиоциты желудочков интенсивно делятся. Кардиомиоциты предсердий делятся менее интенсивно. После вылупления из скорлупы разница нивелируется (Rumyantsev, 1977).

2.2.2. Метод органотипического культивирования ткани

Органотипическое культивирование ткани – классический метод изучения модуляторных свойств физиологически активных веществ и лекарственных препаратов. Метод позволяет стандартизировать условия эксперимента, исключить системные влияния организма на изучаемые процессы, сохранить клеточное сообщество исследуемых тканей (Лопатина и др., 2008; Лопатина и др., 2015; Пасатецкая и др., 2017; Соколова и др., 2017; Гавриченко и др., 2022; Лопатина и др., 2023).

2.2.3. Культивирование эксплантов ткани сетчатки 12-дневного куриного эмбриона

Исследования проводили на 12-дневных куриных эмбрионах породы белый Леггорн. Объектами исследования являлись экспланты ткани сетчатки. Модуляторные свойства широкого диапазона концентраций адреналина и норадреналина оценивали морфометрически. Фармакологический анализ осуществляли при помощи блокаторов α - или β -адренорецепторов. Контрольными были экспланты, культивируемые в среде стандартного содержания (Пасатецкая и др., 2019; Лопатин и др., 2023г) (табл.1.). pH культуральной среды в стандартных условиях – 7,9 (Лопатин и др., 2023в).

2.2.4. Препарирование ткани сетчатки и сердца, процедура культивирования

После извлечения яйца из термошкафа яичную скорлупу протирали 70% спиртом. Стерильным пинцетом разбивали скорлупу над воздушным мешком (с тупого конца яйца), далее удаляли осколки скорлупы, скорлуповую и хориоаллантоисную мембранны. С помощью пинцета переносили эмбрион за шею на препаровальный столик. Эмбрион поворачивали на спинку и расправляли крылья. Ножницами ампутировали голову и помещали в чашку Петри диаметром 90 мм с небольшим количеством питательной среды, расположенную на хладагенте. Далее все манипуляции с глазами куриного эмбриона проводили в ламинаре в стерильных условиях. Глаза выделяли из глазниц, после чего инструментами для микрохирургии глаза удаляли стекловидное тело. Далее, ориентируясь на клетки пигментного эпителия, проводили фрагментацию сетчатки (фрагменты сетчатки размером 0,5-1 мм) и забор материала, который помещали в стерильные чашки Петри диаметром 40 мм на коллагеновую подложку.

В ходе разработки модели метаболического ацидоза *in vitro* дополнительно исследовали ткань сердца 12-дневного куриного эмбриона.

Грудную клетку эмбриона вскрывали ножницами, извлекали орган и помещали в стоящую на хладагенте чашку Петри диаметром 90 мм с небольшим количеством питательной среды. Препарирование ткани сердца осуществляли в ламинаре с помощью пинцета и пики для микрохирургии глаза в стерильных условиях, желудочки отделяли от предсердий. Затем осуществляли забор материала. Фрагменты ткани сердца размером около 1 мм, помещали в стерильные чашки Петри диаметром 40 мм на коллагеновую подложку.

Каждая чашка Петри содержала 20 эксплантов исследуемых тканей. Чашки Петри помещали в термостат при температуре 37°С для

прикрепления эксплантатов к коллагеновой подложке на 5 минут для ткани сетчатки или 10 минут для ткани сердца. Далее заливали в чашки по 3 мл питательной среды и ставили в термостат на 30 минут (таблица 1). Затем извлекали чашки Петри из термостата и добавляли в питательную среду исследуемые вещества в соответствии с протоколом эксперимента. За контрольные принимали эксплантаты, культивируемые в условиях питательной среды стандартного содержания. На каждую изучаемую концентрацию приходилось от 32 до 69 эксплантатов.

Культивирование эксплантатов осуществляли при 37°С и 5% CO₂ в течение 72 часов в CO₂-инкубаторе («Binder», Германия). Спустя трое суток культивирования чашки Петри извлекали из CO₂-инкубатора и исследовали. Результаты оценивали с использованием морфометрического метода. Для унификации количественной оценки показателей степени роста исследуемой ткани использовали относительный критерий – индекс площади (ИП), который рассчитывали как отношение площади всего эксплантата к площади центральной зоны (рисунок 1).

Таблица 1. Состав питательной среды.

Компонент	Производитель	Содержание в среде на 100 мл
Раствор Хенкса	Биолот, Россия	50 мл
Среда Игла МЕМ	Биолот, Россия	40 мл
Сыворотка эмбриональная телячья (FBS)	Thermo Fisher Scientific, США	8,5 мл
Глюкоза 40%	Новосибхимфарм, Россия	0,5 мл
Ципрофлоксацин (2 мг/мл)	Кургансинтез, Россия	1 мл

В работе использовали следующие реагенты:

Адреналин – СОЛОфарм (ООО Гротекс, Российская Федерация) – α - β -адреномиметик;

Норэpineфрин (Р-ФАРМ, АО, Российская Федерация) – α - β -адреномиметик;

Урапидил (ООО АльТро, Российская Федерация) – селективный α 1-адреноблокатор. Антигипертензивный препарат;

Пропранолол (Никомед, Российская Федерация) – неселективный β -адреноблокатор;

Цитофлавин (ООО ПОЛИСАН НТФФ, Российская Федерация) – метаболическое средство;

5%-ый раствор гидрокарбоната натрия (ОАО "Биосинтез", Россия).

Раствор HCl 15% (ООО «ЭКРОСХИМ», Россия)

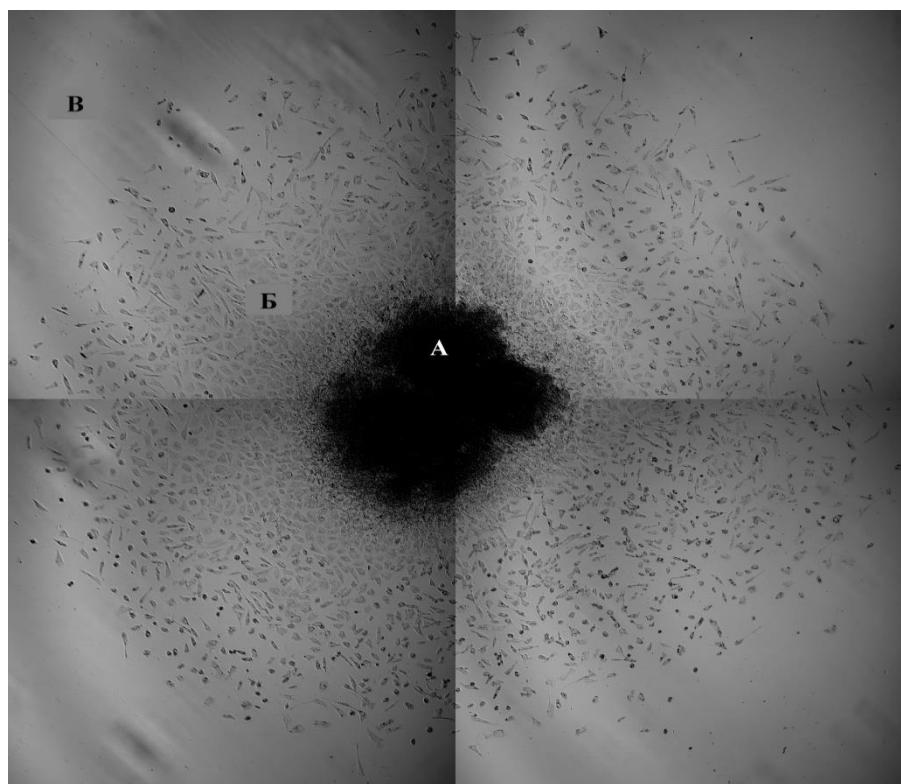


Рисунок 1. Морфометрический анализ эксплантата ткани сетчатки. 3-и сутки культивирования в органотипической культуре. А – центральная зона, Б – зона роста, В-коллагеновая подложка.

За условную единицу площади принимали квадрат окуляра микроскопа с сеткой, сторона квадрата которого при увеличении $3.5 \times 10 - 150$ мкм. Значение индекса площади контрольных эксплантатов принимали за 100%. Контрольными служили эксплантаты, развивающиеся в условиях питательной среды стандартного состава.

На экспланатах ткани сетчатки через трое суток культивирования выделялись две зоны – центральная (более плотная) и периферическая, которая была расположена радиально в виде характерного ореола вокруг центральной зоны. Периферическая зона роста представлена всеми видами клеток развивающейся сетчатки (рисунок 2).

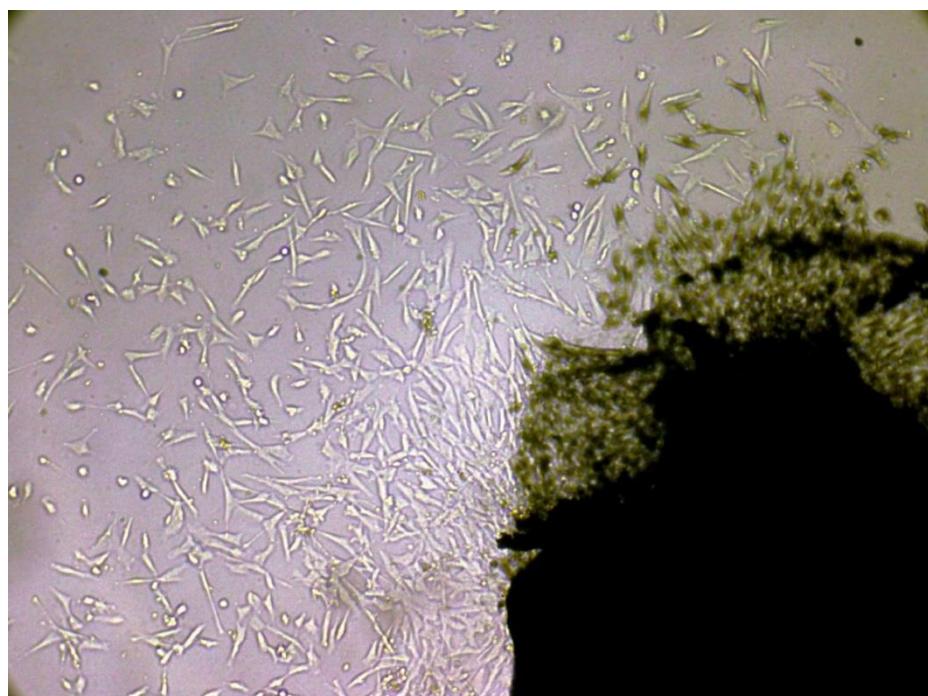


Рисунок 2. Микрофотография эксплантата ткани сетчатки 10-12-дневного куриного эмбриона. 3-и сутки культивирования (ув. $\times 100$). Контроль.

Проходящий свет. Метод световой микроскопии.

2.2.5. Модель метаболического ацидоза *in vitro*

Стандартная питательная среда, используемая для культивирования органных культур, имеет $\text{pH}=7,9$. Состав среды описан в таблице 1. Для моделирования условий метаболического ацидоза *in vitro* pH среды снижали

до значения 7,24, что соответствует значению рН крови, наблюдаемой у новорожденных в случае нарушения баланса кислотно-основного равновесия. Снижение рН среды достигали путем добавления 175 мкл/мл 15% соляной кислоты непосредственно в чашку Петри под контролем рН метра АМТ10 («АМТАСТ», США).

В питательную среду экспериментальных эксплантатов с нормальным или сниженным рН добавляли цитофлавин (ООО НТФФ ПОЛИСАН, Россия) или 5% раствор гидрокарбоната натрия (ОАО "Биосинтез", Россия), согласно протоколу эксперимента. Контрольными служили эксплантаты, культивируемые в среде стандартного содержания и рН.

Через трое суток культивирования чашки Петри извлекали из СО₂ инкубатора и исследовали с использованием морфометрического метода.

Влияние измененного рН и тестируемых веществ на рост эксплантатов исследуемых тканей оценивали при помощи морфометрического критерия – индекса площади (ИП), как описано в пункте 2.2.1.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы STATISTICA 10.0. При сравнении контрольной и экспериментальной групп использовали t-критерий Стьюдента для двух независимых выборок. Множественные сравнения проводили с применением дисперсионного анализа ANOVA. Данные представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего, выраженные в процентах. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

2.3. Клиническая часть исследования №2

2.3.1. Характеристика участников исследования №2

В исследование вошло 40 новорожденных детей первых двух дней жизни, которые поступили в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных 39а «Детского городского многопрофильного клинического специализированного центра высоких медицинских технологий» №1 города Санкт-Петербург. Исследуемая группа представляла из себя различную

категорию пациентов, как доношенных, так и недоношенных, из которых все дети нуждались в защелачивающей терапии на фоне метаболического ацидоза.

У всех пациентов, включенных в исследование, зарегистрированы нарушения в системе кислотно-щелочного равновесия (КЩР) и, помимо основного диагноза, поставлен диагноз метаболический ацидоз. С целью дифференциальной диагностики метаболического и респираторного ацидоза клинически и лабораторно оценивали газовый состав крови до начала и в ходе проводимого лечения гидрокарбонатом натрия или цитофлавином, уровень лактата и дефицит или избыток оснований в крови, уровень рН крови.

Пациенты случайным образом были разделены на две группы по 20 человек в каждой. В группах были недоношенные и доношенные новорожденные. В первую группу вошли дети, которые получали терапию раствором цитофлавина (ЦИТОФЛАВИН®, раствор для в/в введения, ООО НТФФ ПОЛИСАН, Россия) 2 мл/кг/сут.

Вторую группу составили пациенты, которые получали терапию гидрокарбонатом натрия. Гидрокарбонат натрия вводили микроструйно в постоянном режиме из расчета $BE \times 0,3 \times M$ (кг). Лабораторные показатели (BE, уровень лактата и рН крови) регистрировали в течение 6 дней.

Статистический анализ проводили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена с привлечением языка программирования R. Результаты представлены в виде $M \pm m$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Результаты клинической части исследования №1

3.1.1. Анализ ведущих факторов риска развития ретинопатии новорожденных

Нами выявлены предполагаемые ведущие факторы риска развития ретинопатии новорожденных: степень оксигенации, количество гемотрансфузий, гестационный возраст и наличие инотропной поддержки в ходе лечения. Дополнительно рассматривались ИВЛ-часы, вес, инфекционный статус, наличие внутриутробных фетальных коммуникаций, венозная сатурация. В Таблице 2 приведены данные по 6 пациентам, которым проведено хирургическое вмешательство.

Таблица 2. Ведущие факторы риска развития ретинопатии новорожденных. Пациенты группы А

Код пациента	ГВ (неде ль)	Вес (грамм)	Инотропная поддержка	ГТС	ИВЛ (часы)	Стадия ретинопатии	FiO ₂ %
A1	26/27	1,020	Адреналин и Добутамин	2	240	3	40-50
A2	28	1,195	Адреналин и Добутамин	2	240	3	40-45
A3	24	0,700.	Адреналин, Норадреналин и Добутамин	6	1032	3	100-80-40
A4	28	0,940	Адреналин Добутамин	2	168	3	40

A5	24	0,700	Адреналин Добутамин	2	216	3	40
A6	24	0,970	Адреналин Добутамин	4	354	3	40-45

В зависимости от тяжести ретинопатии пациенты (n=40) были разделены на 3 группы. Группа А – 6 прооперированных детей с диагнозом ретинопатия 3 стадии. Пациенты получали FiO_2 40% и выше. Группа В – 23 пациента с диагнозом ретинопатия 1 и 2 стадии. Пациенты этой группы получали FiO_2 40% и выше в 34,7% случаев, FiO_2 30-35% – 52,17% детей и FiO_2 21-30% – 13% пациентов. Группа С – 11 человек с диагнозом сетчатка в стадии васкуляризации. 9% пациентов этой группы получали FiO_2 40% и выше, FiO_2 30-35% получали 45,5% детей и FiO_2 21-30% – 45,5% новорожденных.

В работе статистически обоснованно сравнивали средние величины факторов риска в зависимости от группы принадлежности пациента, а также рассчитывали ранговые коэффициенты корреляции между факторами риска в каждой группе. Для графического представления данных использовали диаграмму «ящик-с-усами». На рис. 3 графически изображена переменная «степень оксигенации FiO_2 ». Выборочные медианы (устойчивые к выбросам статистики среднего) групп А и В равны 0.43 и 0.35 соответственно, их разность равна 0.08, то есть уровень FiO_2 группы А выше соответствующего уровня в группе В.

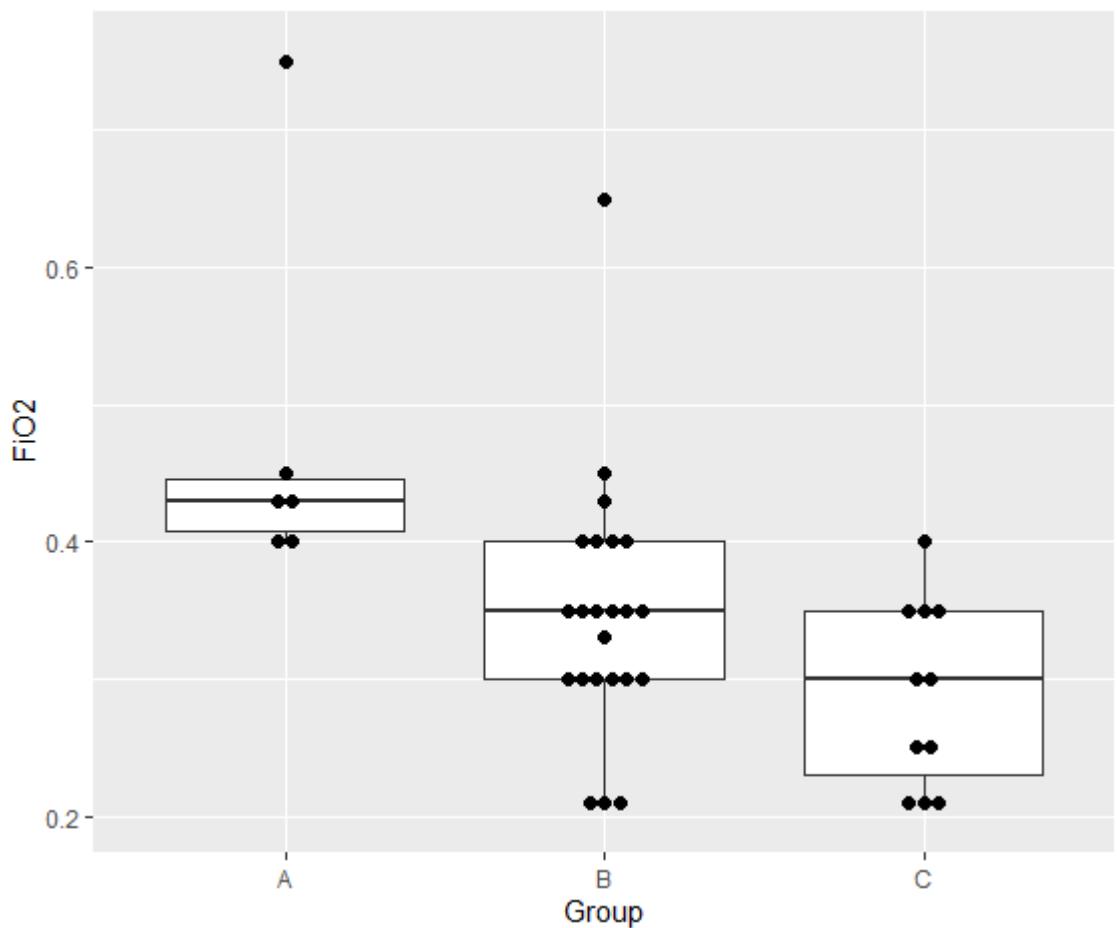


Рисунок 3. Анализ влияния степени оксигенации на степень развития ретинопатии в 3-х группах пациентов

В составленной по всем пяти переменным общей Таблице 3 полученный результат будет записан в виде $A > B$. Аналогичные расчеты, выполненные для средних уровней FiO_2 у групп пациентов В и С, не выявили различий генеральных средних. Такой результат записан в виде $B = C$. Результаты обработки данных по предложенному в работе методу представлены в Таблице 3.

Таблица 3. Анализ пяти исследуемых параметров у 40 новорожденных детей

			Группы				
Параметр		Параметр FiO ₂			A	B	C
			Группы		A	*	>
Параметр ИВЛ	Параметр Вес	Группы	B			*	=
			A	*		=	=
			B			*	=
			A	*		=	=
Параметр ГТС	Группы	Группы	B			*	=
			A	*		=	=
			B			*	=
			A	*		=	=
Параметр ГВ	Группы	Группы	B			*	=
			A	*		=	=
			B			*	=
			A	*		=	=

При исследовании количества часов, проведенных с применением ИВЛ (искусственной вентиляции легких), пациенты группы А не отличались от пациентов группы В. Параметр ИВЛ достоверно выше в группах А и В по сравнению с группой С (рис. 4).

Дальнейший анализ показал, что различий по параметру ГТС (количество гемотрансфузий) между пациентами групп А, В, С нет (рис. 5).

Пациенты группы А по параметру Вес не имели значимых различий с пациентами группы В и достоверно отличались от пациентов группы С (рис. 6). Гестационный возраст (параметр ГВ) у пациентов группы А достоверно ниже возраста пациентов группы В и С, а у пациентов группы С выше В и А соответственно (рис. 7).

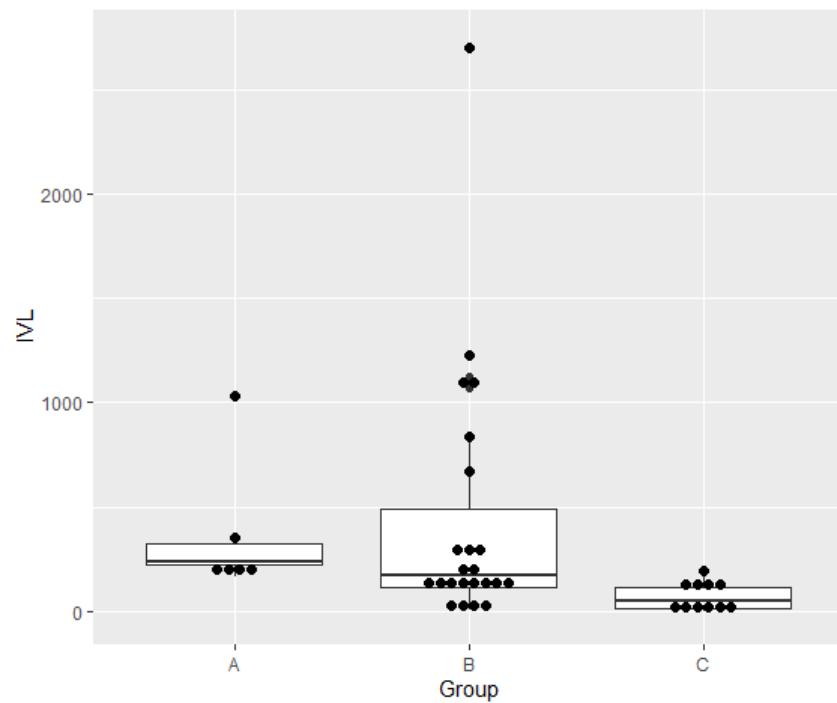


Рисунок 4. Количество часов, проведенных на ИВЛ, среди пациентов трёх групп

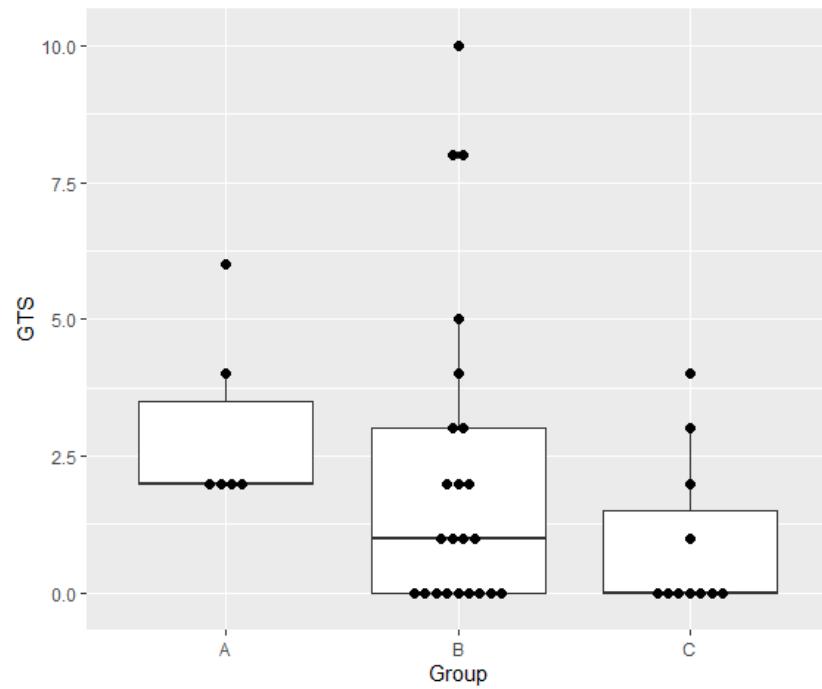


Рисунок 5. Анализ влияния количества гемотрансфузий у пациентов на степень развития ретинопатии в 3-х группах

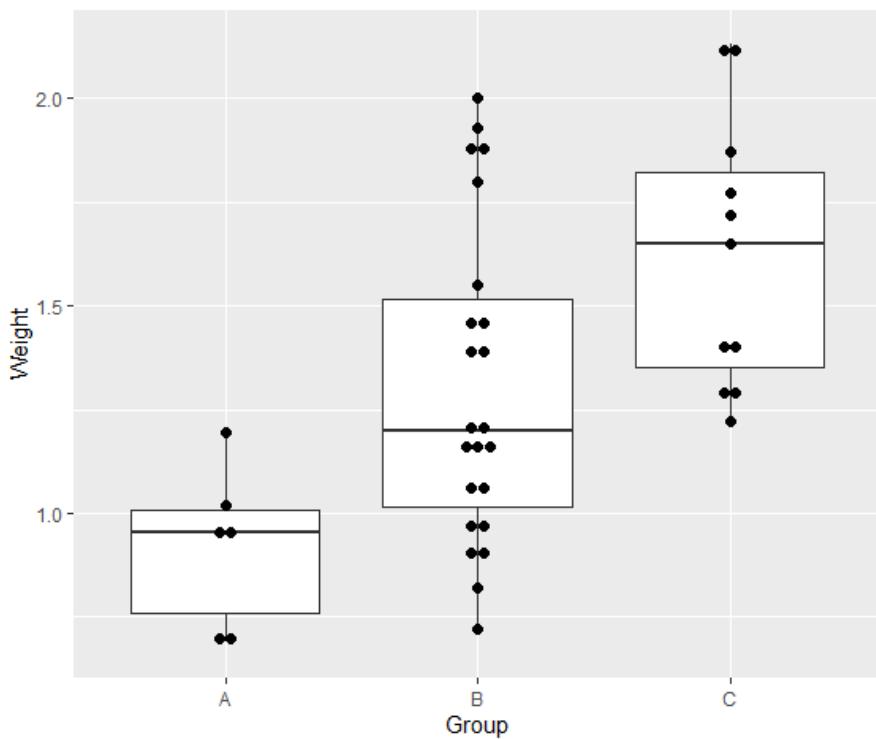


Рисунок 6. Анализ влияния веса пациентов на степень развития ретинопатии в 3-х группах

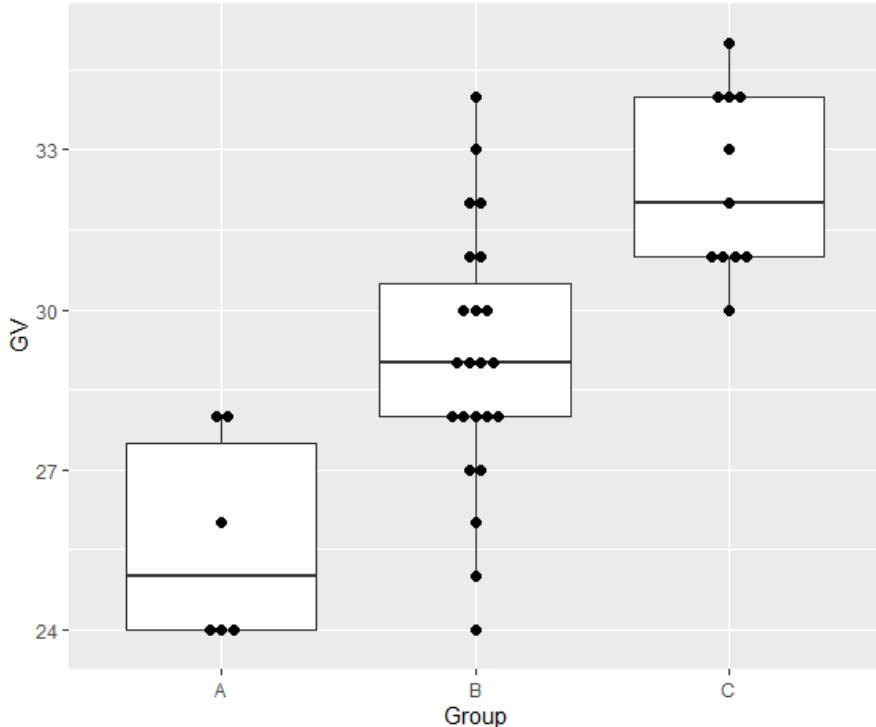


Рисунок 7. Влияние гестационного возраста пациентов на степень развития ретинопатии в 3-х группах

В следующих таблицах представлены выборочные значения коэффициентов ранговой корреляции ρ Спирмана между факторами в разрезе групп, значимыми при уровне доверительной вероятности 0,95. В группе А обнаружена корреляция между параметрами ИВЛ и ГТС (таб. 4).

Таблица 4. Анализ корреляций между выбранными параметрами в группе А

Группа А	FiO ₂	Вес	ИВЛ	ГТС	ГВ
FiO ₂	*	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>
Вес		*	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>
ИВЛ			*	0,858	<i>Hem</i>
ГТС				*	<i>Hem</i>
ГВ					*

В группе В обнаружена корреляция между FiO₂ к ИВЛ (0,434) и ГТС (0,438). Выявлена положительная зависимость между весом и гестационным возрастом (ГВ). Между количеством гемотрансфузий (параметр ГТС) и гестационным возрастом (ГВ) – корреляция отрицательная. Нет прямой связи между количеством гемотрансфузий и гестационным возрастом пациента (таб. 5).

Таблица 5. Анализ корреляций между выбранными параметрами в группе В

Группа В	FiO ₂	Вес	ИВЛ	ГТС	ГВ
FiO ₂	*	<i>Hem</i>	0,434	0,438	<i>Hem</i>
Вес		*	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	0,801
ИВЛ			*	0,705	<i>Hem</i>
ГТС				*	-0,478
ГВ					*

У пациентов в группе С обнаружена отрицательная корреляция между параметром FiO_2 и весом с коэффициентом -0,616, а также между параметром Вес и количеством часов ИВЛ с коэффициентом -0,674. Между параметрами FiO_2 , Вес, ИВЛ нет корреляции с параметрами количество гемотрансфузий (ГТС) и гестационный возраст (ГВ) (таб. 6).

Таблица 6. Анализ корреляций между выбранными параметрами в группе С

Группа С	FiO_2	Вес	ИВЛ	ГТС	ГВ
FiO_2	*	-0,616	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>
Вес		*	-0,674	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>
ИВЛ			*	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>
ГТС				*	<i>Hem</i>
ГВ					*

Проведенные исследования показали, что наиболее неблагоприятный процент кислорода, подаваемый вместе с газовоздушной смесью, начинается от 40-45%.

Параметры венозной сатурации у всех пациентов были в пределах нормативных и возрастных показателей (рис. 8). Так как отклонения венозной сатурации чаще происходят при истощении организма и включения компенсаторных путей потребления кислорода, а оценка артериальной сатурации как более динамичного показателя невозможна ввиду трудности постановки катетера у недоношенных детей, этот показатель решено было не учитывать.

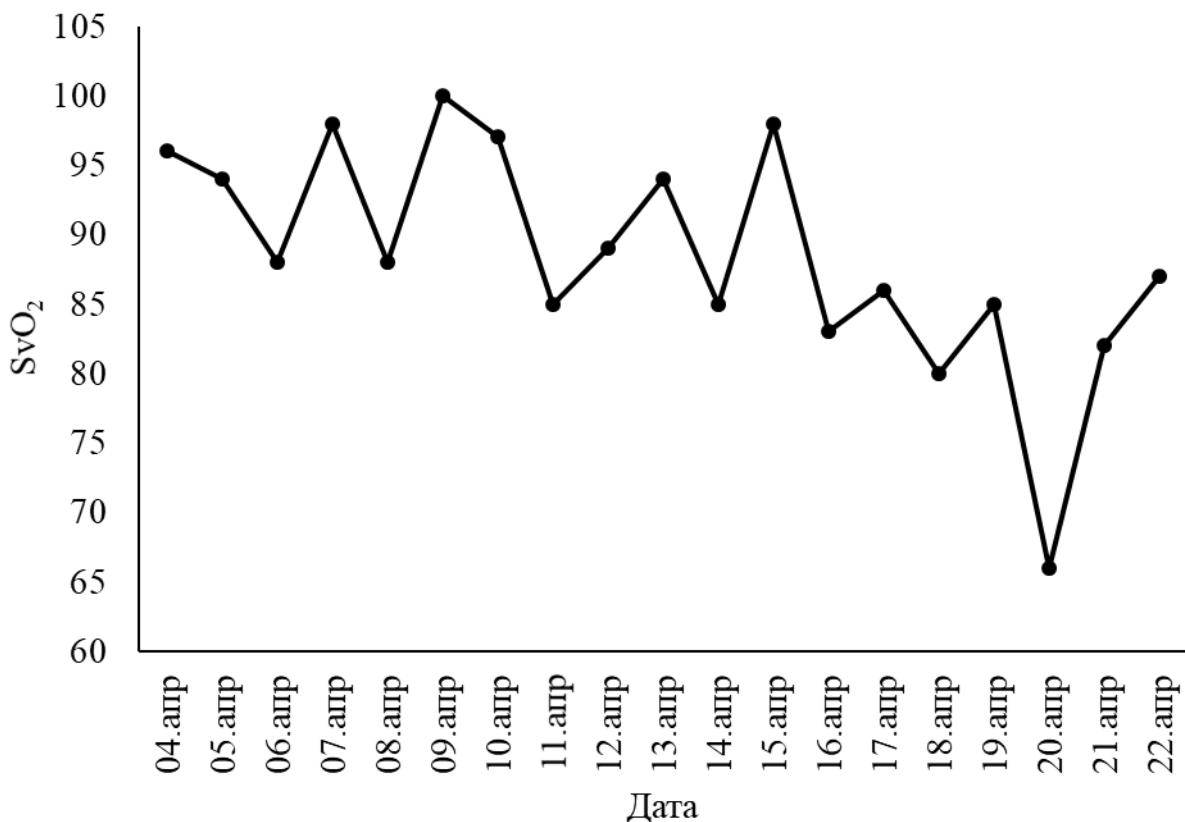


Рисунок 8. График уровня венозной SvO_2 пациента, участвующего в исследовании. Пример записи

В ходе исследования выделены предполагаемые дополнительные факторы риска развития ретинопатии новорожденных (таб. 7). В таблице отражены данные по наличию внутриутробного инфекционного статуса, состоянию фетальных коммуникаций, уровню С-реактивного белка.

Таблица 7. Дополнительные предполагаемые факторы риска развития ретинопатии новорожденных. Пример по группе А

Номер истории болезни	ГВ (недель)	Вес (грамм)	Инфекционный статус	Уровень СРБ (мг/л)	ОАП
A1	26/27	1,020	Ранний неонатальный сепсис.	5	Нет

A2	28	1,195	Внутриамниотическая инфекция.	2,9	Да, не значимый
A3	24	0,700	Ранний неонатальный сепсис.	8,5	Да, не значимый
A4	28	0,940	Внутриамниотическая инфекция.	5,2	Да, гемодинамически значимый
A5	24	0,700	Внутриамниотическая инфекция.	1,8	Нет
A6	24	0,970	Внутриамниотическая инфекция.	152	Нет

Результаты анализа демонстрируют наличие отрицательной корреляции между гестационным возрастом и степенью ретинопатии новорожденных ($R=-0,75$, $p<0,001$). Также выявлена положительная корреляция между наличием инотропной поддержки и степенью выраженности ретинопатии новорожденных ($R= 0,61$, $p <0,001$).

3.1.2. Анализ риска развития ретинопатии новорожденных группы детей максимального риска

Для уточнения полученных результатов провели клинико-диагностический разбор 27 новорожденных недоношенных детей группы максимального риска. В исследование включили пациентов с экстремально низкой массой тела и гестационным возрастом менее 32 недель. Дети были поделены на 3 группы.

Группа А в количестве 11 человек состояла из прооперированных пациентов, которым был поставлен диагноз ретинопатия 3 стадии. Группа В

в количестве 13 человек состояла из пациентов с диагнозом ретинопатия 1 и 2 стадии. Группа С в количестве 3 человек была с диагнозом сетчатка в стадии васкуляризации.

По аналогии со статистическим анализом, представленным в первой части работы, была разработана таблица. В составленной по всем пяти переменным общей Таблице 8 полученный результат записан в виде А=В. Расчеты, выполненные для средних уровней FiO₂, у групп пациентов В и С также не выявили различий генеральных средних. Такой результат отражен в таблице 8 в виде В=С.

Таблица 8. Анализ пяти исследуемых параметров у 27 новорожденных детей

			Группы		
Параметр	Параметр ГТС	Параметр ИВЛ	Группы		Группы
			Группы	Группы	
Параметр ГВ			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*
			Группы	Группы	A
					*
			Группы	Группы	B
					*

Анализ параметра кислородозависимости показал, что разницы между пациентами группы А, В и С нет (рис. 9).

Параметр – количество часов, проведенных с применением ИВЛ, – у пациентов группы А был достоверно выше, чем у пациентов группы В и С. Параметр ИВЛ был выше и в группе В по сравнению с группой С (рис. 10).

Дальнейший анализ показал, что различий по параметру ГТС (количество гемотрансфузий) между пациентами групп А, В, С нет (рис. 11).

Пациенты группы А по параметру Вес не имеют значимых различий с пациентами группы В и С (рис. 12).

Гестационный возраст (параметр ГВ) у пациентов группы А не отличается от пациентов группы В. Гестационный возраст пациентов группы С достоверно выше В и А соответственно (рис. 13).

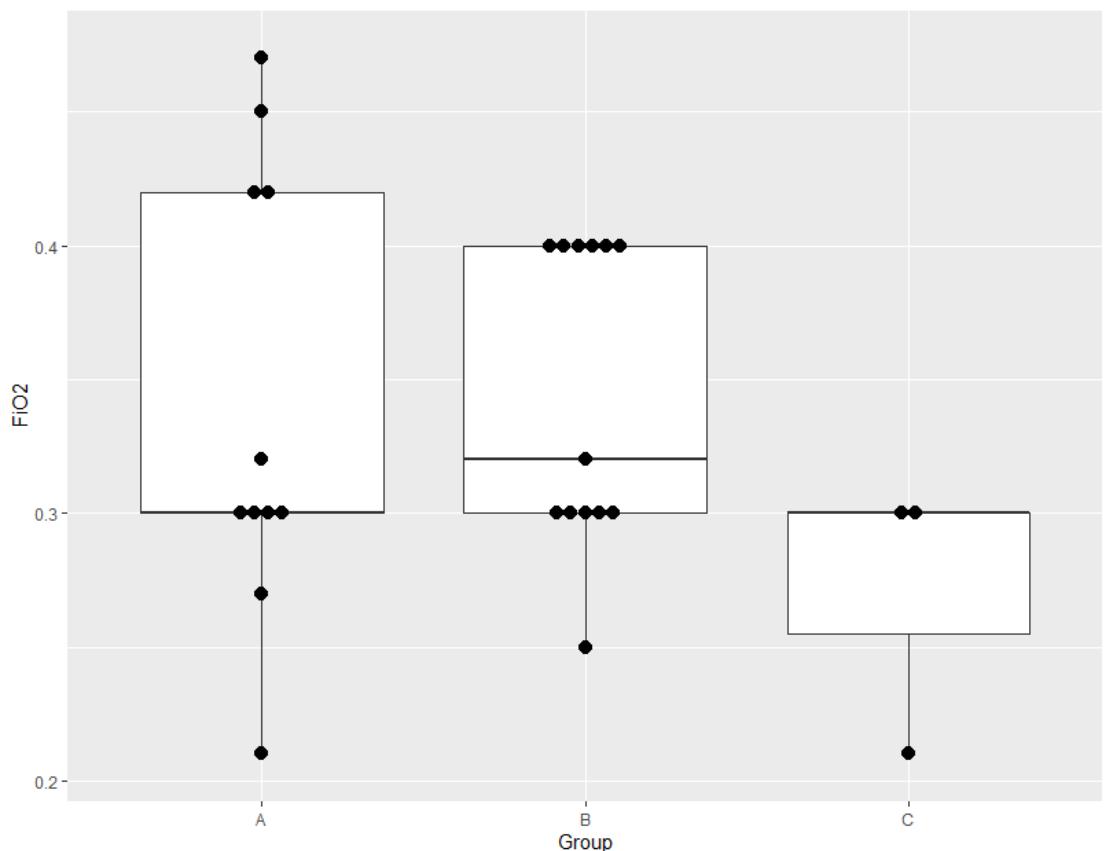


Рисунок 9. Анализ влияния степени оксигенации на степень развития ретинопатии в 3-х группах пациентов

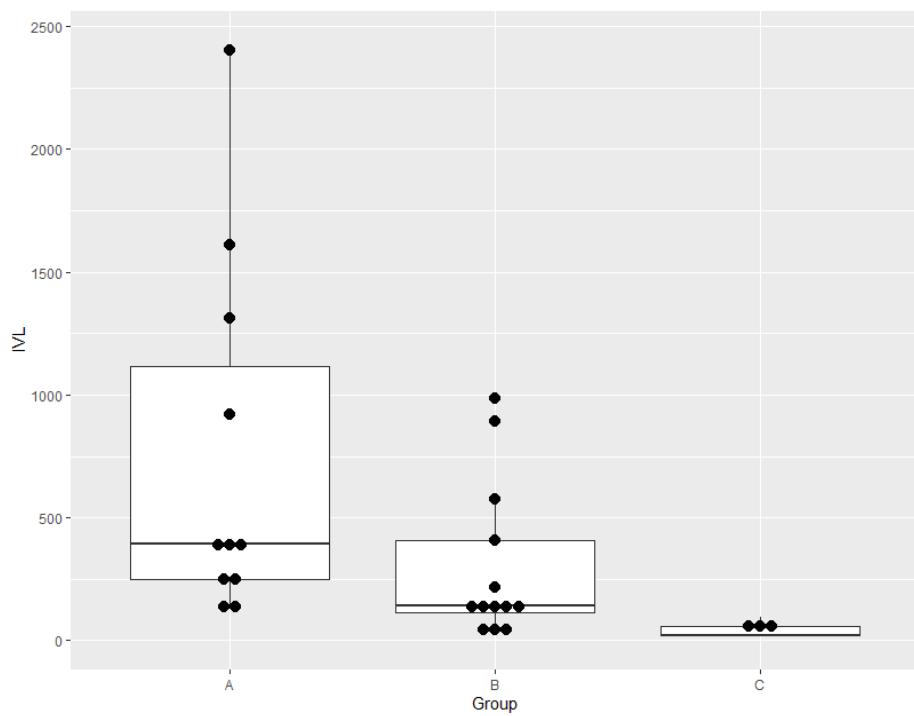


Рисунок 10. Различия по числу часов, проведенных с применением ИВЛ у пациентов групп А по отношению к В и С.

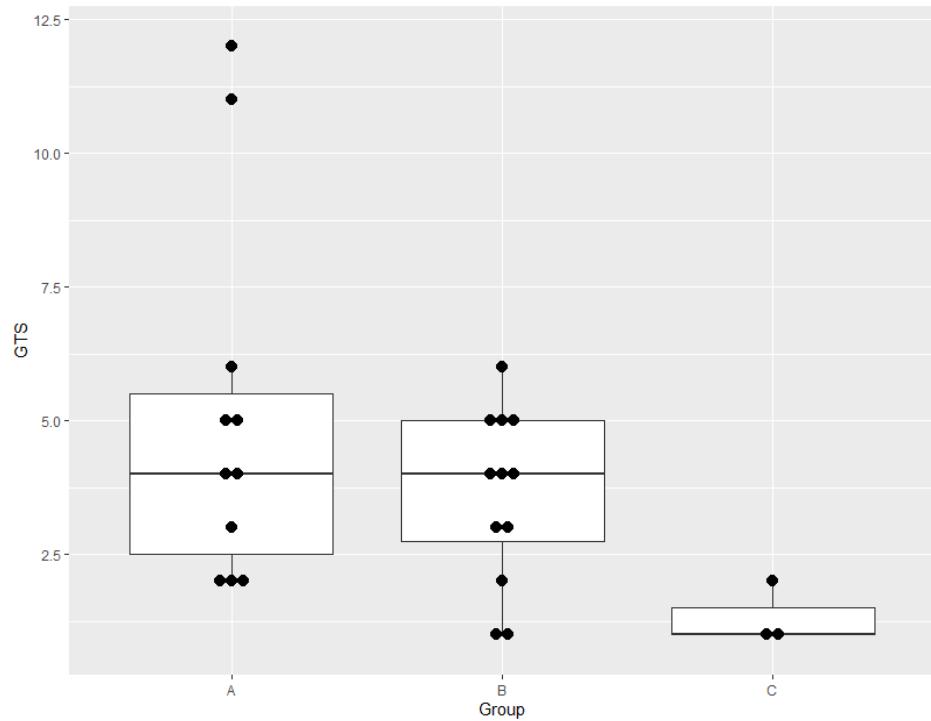


Рисунок 11. Анализ влияния количества гемотрансфузий у пациентов на степень развития ретинопатии в 3-х группах

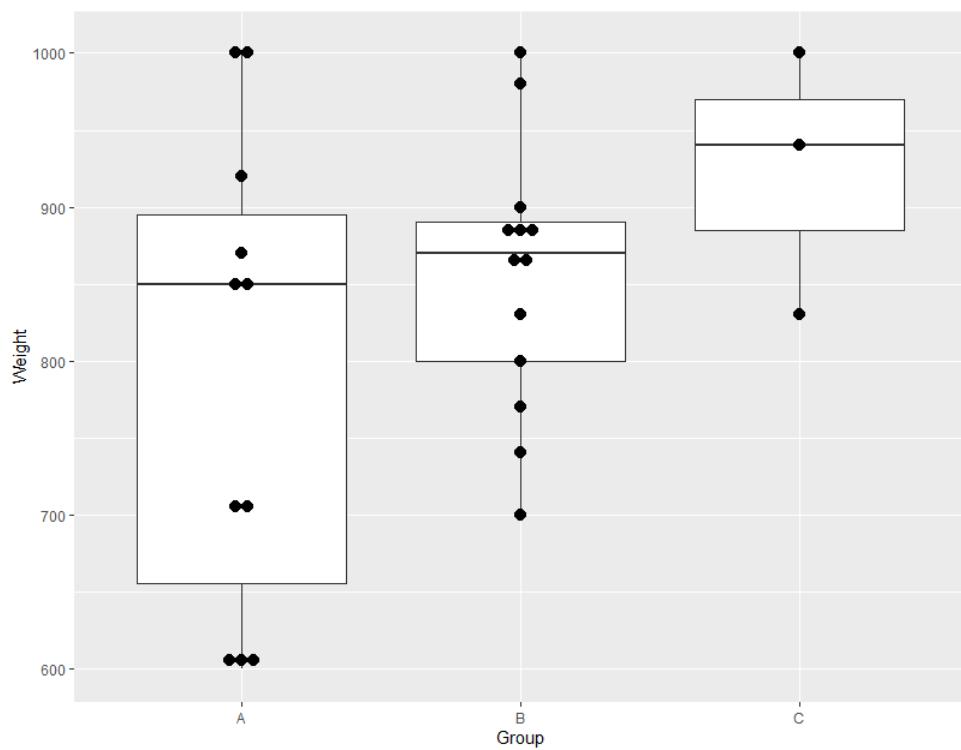


Рисунок 12. Анализ влияния веса пациентов на степень развития ретинопатии в 3-х группах

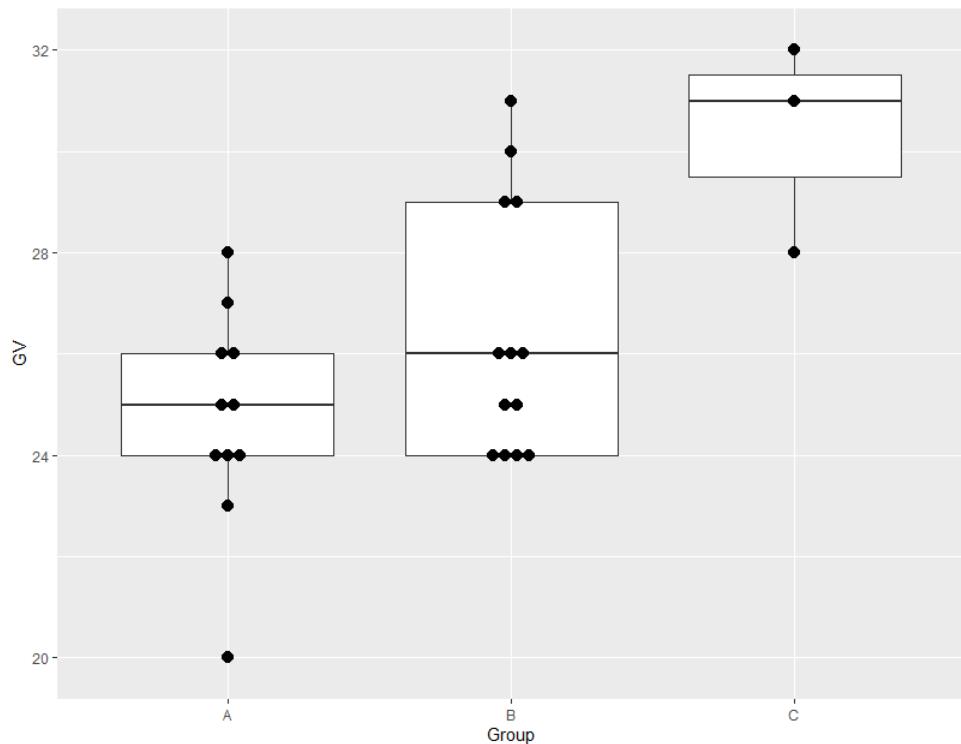


Рисунок 13. Влияние гестационного возраста пациентов на степень развития ретинопатии в 3-х группах

В следующих таблицах представлены выборочные значения коэффициентов ранговой корреляции ρ Спирмана между факторами в разрезе групп, значимыми при уровне доверительной вероятности 0,95.

Таблица 9. Анализ корреляций между выбранными параметрами в группе А

Группа А	FiO_2	Вес	ИВЛ	ГТС	ГВ
FiO_2	*	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>
Вес		*	-0,764	-0,754	0,905
ИВЛ			*	0,774	-0,673
ГТС				*	-0,699
ГВ					*

В группе А обнаружена отрицательная корреляция между параметрами Вес к ИВЛ (-0,764), а также к ГТС (-0,754), и обнаружена корреляция между Вес и ГВ (0,905). Есть корреляция между ИВЛ и количеством ГТС (0,774), корреляция между ИВЛ и ГВ отрицательная (-0,673). Между ГТС и ГВ корреляция отрицательная (-0,699). Нет прямой связи между количеством гемотрансфузий и гестационным возрастом пациента (таб. 9).

Таблица 10. Анализ корреляций между выбранными параметрами в группе В

Группа В	FiO_2	Вес	ИВЛ	ГТС	ГВ
FiO_2	*	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>
Вес		*	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>
ИВЛ			*	0,580	<i>Hem</i>
ГТС				*	<i>Hem</i>
ГВ					*

Анализ группы В показал положительную корреляцию параметра ИВЛ и ГТС (0,580), как и в группе А (таб. 9, 10).

Таблица 11. Анализ корреляций между выбранными параметрами в группе С

Группа С	FiO ₂	Вес	ИВЛ	ГТС	ГВ
FiO ₂	*	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	-1	<i>Hem</i>
Вес		*	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>
ИВЛ			*	<i>Hem</i>	<i>Hem</i>
ГТС				*	<i>Hem</i>
ГВ					*

Анализ группы С показал отрицательную корреляцию параметра FiO₂ и ГТС (-1), как и в группе А (таб. 9, 11).

Большинство пациентов, имеющих диагноз ретинопатия разной степени тяжести, и группа пациентов, вышедших на оперативное лечение, получали инотропную поддержку препаратами группы биогенных аминов. Далее, в условиях органотипической культуры ткани сетчатки и сердца 12-дневных куриных эмбрионов, исследовали физиологические эффекты адреналина и норадреналина и их механизм.

3.2. Результаты экспериментальной части исследования №1

3.2.1. Исследование участия адренорецепторов в регуляции ретиногенеза в модельных условиях

Влияние адреналина на рост эксплантатов ткани сетчатки исследовали в диапазоне концентраций от 10⁻⁴ до 10⁻¹² М. Трофотропного действия препарата не обнаружено. В высоких концентрациях (10⁻⁴ и 10⁻⁵ М) адреналин обнаружил ретинотоксический эффект. ИП экспериментальных эксплантатов был ниже контрольного значения на 95,0±2,0% (n=40, p<0,001) и 35±5,0% (n=40, p=0,01) (рис. 14).

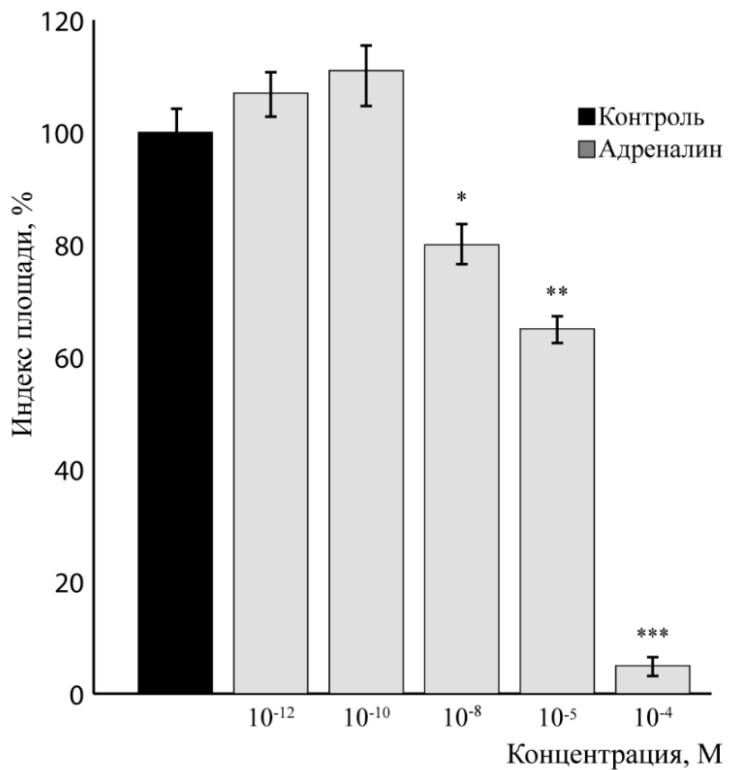


Рисунок 14. Влияние адреналина на рост эксплантов ткани сетчатки.

*- $p<0,05$, **- $p<0,01$, ***- $p<0,001$ по сравнению с контрольным значением

При исследовании влияния норадреналина (10^{-4} - 10^{-12} М) на рост эксплантов ткани сетчатки обнаружен трофотропный эффект препарата в дозе 10^{-12} М. ИП был выше контрольного значения на $40\pm6,0\%$ ($n=40$, $p=0,01$). В высоких концентрациях (10^{-4} - 10^{-5} М) норадреналин, как и адреналин, угнетал рост эксплантов исследуемой ткани (рис. 15).

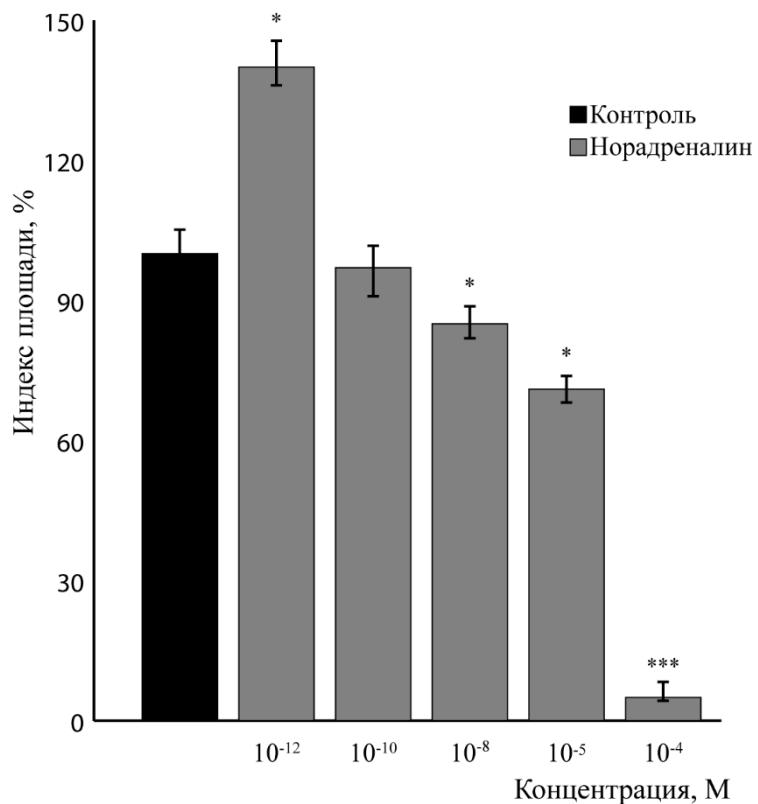


Рисунок 15. Норадреналин дозозависимо регулирует рост эксплантов ткани сетчатки. *- $p<0,05$, ***- $p<0,001$ по сравнению с контрольным значением

Для изучения механизма трофотропного и ретинотоксического действия катехоламинов в питательную среду экспериментальных чашек Петри вводили неселективный β -адреноблокатор пропранолол и селективный α_1 -адреноблокатор урапидил. Предварительно оценили влияние блокаторов на рост эксплантов ткани сетчатки.

Пропранолол в диапазоне концентраций от 10^{-4} до 10^{-10} М проявлял дозозависимое действие. В концентрации 10^{-4} М препарат практически полностью угнетал рост экспериментальных эксплантов, ИП был ниже контрольного значения на $95,0\pm1,8\%$ ($n=40$, $p<0,001$). При введении в питательную среду пропранолола в концентрации 10^{-6} М ИП экспериментальных эксплантов был ниже контрольного значения на $32,0\pm5,9\%$ ($n=40$, $p=0,014$). В следующей части работы β -адреноблокатор использовали в максимальной концентрации, которая не влияет на рост эксплантов ткани сетчатки (10^{-8} М).

Урапидил в концентрациях 10^{-4} - 10^{-8} М на рост эксплантов ткани сетчатки не влиял. ИП не отличался от контрольного значения, поэтому в следующих сериях экспериментов для изучения механизма трофотропного действия катехоламинов блокатор применяли в концентрации 10^{-4} М.

Для оценки механизма трофотропного действия норадреналина экспланты ткани сетчатки культивировали в питательной среде, содержащей норадреналин (10^{-12} М) и пропранолол (10^{-8} М) или урапидил (10^{-4} М). Стимулирующее рост эксплантов действие норадреналина сохранялось в присутствии β -адреноблокатора. ИП был на $37,0 \pm 6,0\%$ ($n=40$, $p=0,02$) выше контрольного значения и не отличался от ИП эксплантов, культивируемых только в присутствии норадреналина (10^{-12} М). При введении в питательную среду совместно урапидила и норадреналина, трофотропное действие последнего отсутствовало. ИП экспериментальных эксплантов не отличался от контрольного значения (рис. 16).

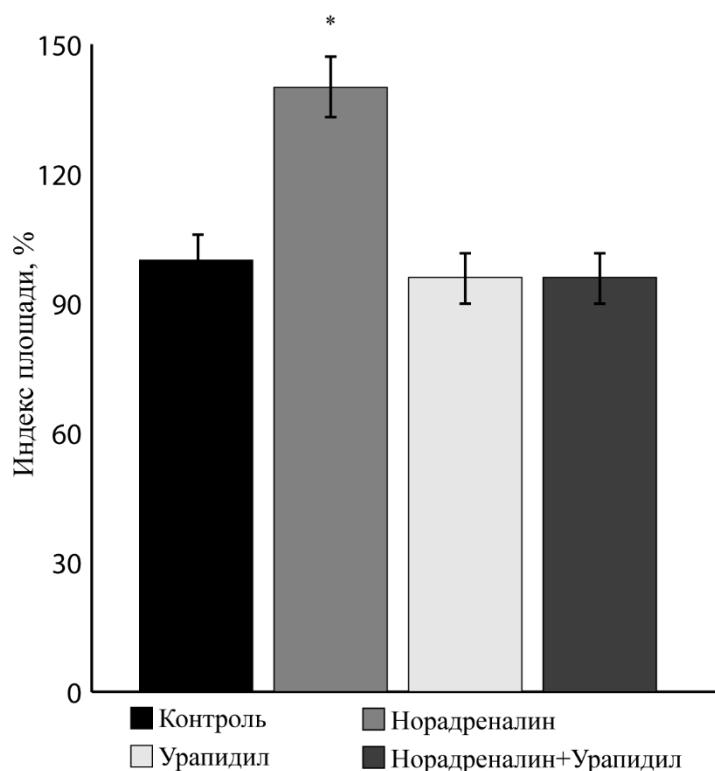


Рисунок 16. Трофотропный эффект норадреналина (10^{-12} М) опосредован активацией α_1 -адренорецепторов. *- $p<0,05$ по сравнению с контрольным значением

Оценку ретинотоксического эффекта катехоламинов проводили при культивировании эксплантов в питательной среде, содержащей катехоламины в концентрации $10^{-5}M$ и пропранолол ($10^{-8}M$). Ретинотоксический эффект как адреналина, так и норадреналина, на фоне β -адреноблокатора отсутствовал (рис. 17).

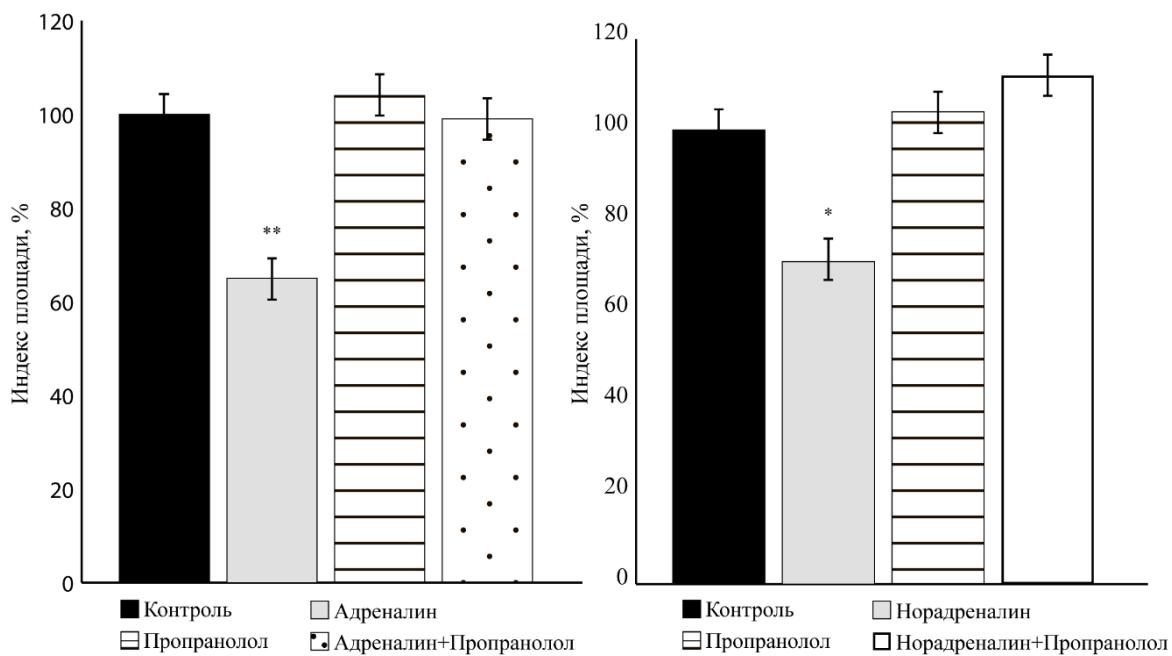


Рисунок 17. Пропранолол нивелирует ретинотоксический эффект катехоламинов. *- $p<0,05$, **- $p<0,01$ по сравнению с контрольным значением

Проведенные исследования показали, что механизм трофотропного действие катехоламинов тканеспецифичен и реализуется как через β -, так и через α -адренорецепторы. Полученные ранее результаты показали, что β -адренорецепторы не вовлечены в реализацию ретиностимулирующего действия норадреналина.

После экспериментального подтверждения участия адренорецепторов в реализации ретинотрофного и ретинотоксического эффектов биогенных аминов встал вопрос о способах минимизации агрессивного применения препаратов данной группы на ранней стадии лечения шока у новорожденных детей.

Было решено обратить внимание на метаболический ацидоз, который является одним из самых частых осложнений, как недоношенности, так и инфекционного процесса, а также одним из факторов риска развития ретинопатии новорожденных. Известно, что метаболический ацидоз приводит к уменьшению ударного и минутного объема крови на фоне снижения сократительной функции миокарда и к снижению чувствительности сердечно-сосудистой системы к воздействию препаратов с инотропной и вазопрессорной активностью, а также самостоятельно является одним из факторов риска развития ретинопатии недоношенных.

Использование раствора гидрокарбоната натрия с целью быстрой коррекции ацидоза может приводить к развитию тяжелой гипернатриемии у новорожденных детей, а увеличение скорости инфузии у маловесных детей приводить к жидкостной перегрузке и отёкам во время проводимого лечения.

Для дальнейшей серии опытов был выбран сукцинат содержащий препарат – цитофлавин. Данный препарат разрешен к применению у новорожденных детей с 24 недели гестации (РЛС).

В описании к препарату есть данные о побочном действии, способном вызывать метаболический алкалоз, поэтому мы задались вопросом, может ли цитофлавин в условиях патологии корректировать метаболический ацидоз до нормы. Применение цитофлавина является привлекательным с точки зрения простоты использования. Так, добавление препарата в дозе 2 мл/кг/сут в раствор капельницы не требует увеличения скорости инфузии во время проведения терапии.

В связи с этим следующая часть работы была посвящена разработке модели ацидоза *in vitro* для использования в качестве тест-системы оценки эффективности препаратов, применяемых для коррекции кислотно-основного состояния новорожденных детей. Подобная тест-система позволит оценить эффективность цитофлавина и гидрокарбоната натрия при коррекции ацидоза, а также его последствий в прямых экспериментах с использованием

в качестве объектов эксплантатов ткани сетчатки и сердца 12-дневных куриных эмбрионов.

3.2.2. Исследование влияния цитофлавина и гидрокарбоната натрия на рост эксплантатов ткани сердца и сетчатки 12-дневного куриного эмбриона в норме и в условиях модели ацидоза *in vitro*

Цитофлавин исследовали в диапазоне концентраций 0,2-20 мкл/мл. На рост эксплантатов ткани сетчатки во всех изучаемых концентрациях в условиях стандартного рН препарат не влиял. ИП не отличался от контрольного значения (рис. 18). В концентрации 0,2 мкл/мл и 2 мкл/мл при стандартном рН препарат не оказывал действия на рост эксплантатов ткани сердца. ИП составил 100% и 95% соответственно. В концентрации 20 мкл/мл препарат обнаружил кардиотокическое действие. ИП экспериментальных эксплантатов был ниже контрольного значения на $34,0 \pm 4,0\%$ ($n=69$, $p<0,001$) (рис. 19).

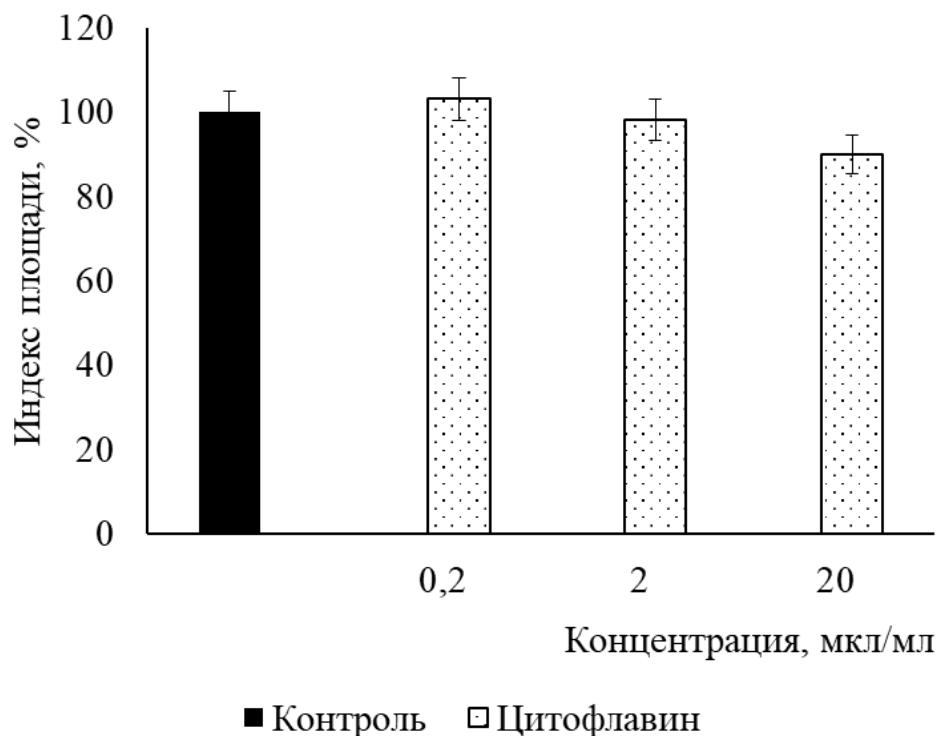


Рисунок 18. Влияние цитофлавина на рост эксплантатов ткани сетчатки куриных эмбрионов

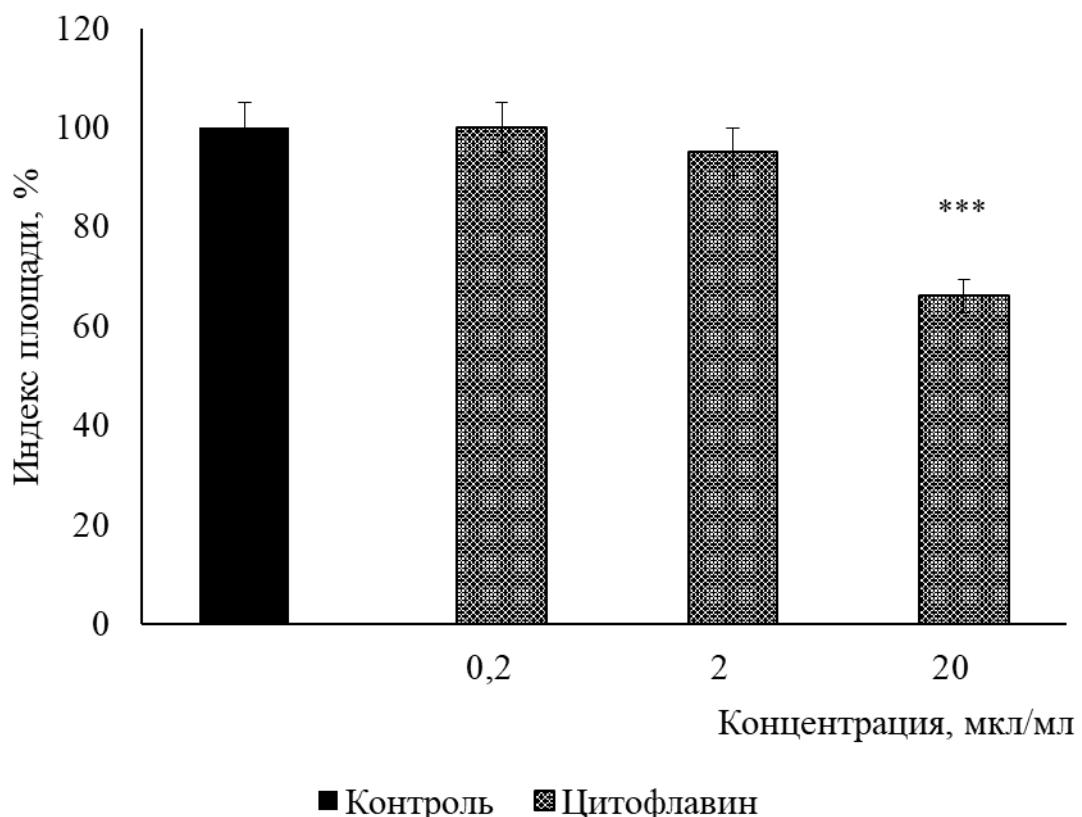


Рисунок 19. Влияние цитофлавина на рост эксплантов ткани сердца куриных эмбрионов. ***- $p<0,001$ по сравнению с контрольным значением

Культивирование эксплантов ткани сетчатки в питательной среде в условиях моделированного ацидоза при $pH=7,24$ оказывало ретинотоксический эффект. ИП экспериментальных эксплантов был ниже контрольного значения на $53,0\pm7,0\%$ ($n=56$, $p<0,001$). Добавление цитофлавина $0,2$ мкл/мл устранило ретинотоксический эффект. ИП (индекс площади), зарегистрированный через 3-е суток культивирования, не отличался от контрольного значения и отличался от ИП эксплантов культивируемых при $pH = 7,24$ на $47,0\pm6,0\%$ ($n=42$, $p<0,001$) (Рис. 20).

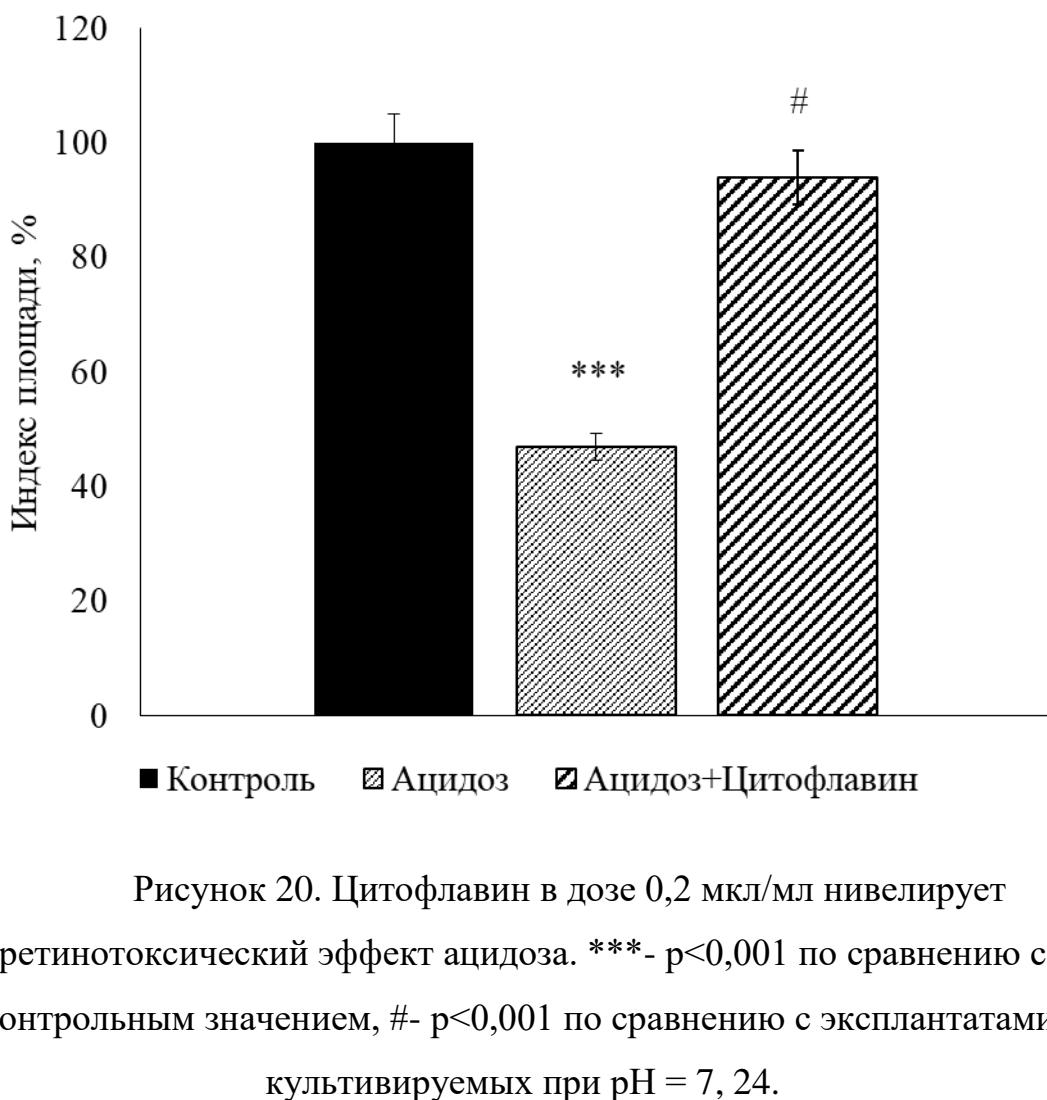


Рисунок 20. Цитофлавин в дозе 0,2 мкл/мл нивелирует ретинотоксический эффект ацидоза. ***- $p<0,001$ по сравнению с контрольным значением, #- $p<0,001$ по сравнению с эксплантатами, культивируемых при $pH = 7, 24$.

При культивировании эксплантатов ткани сердца в питательной среде в условиях ацидоза зарегистрирован кардиотоксический эффект. ИП экспериментальных эксплантатов был ниже контрольного значения на $32,0 \pm 5,0\%$ ($n=33$, $p<0,001$). Цитофлавин в дозе 0,2 мкл/мл устранил этот кардиотоксический эффект. ИП экспериментальных эксплантатов не отличался от контрольного значения и отличался от ИП эксплантатов, культивируемых в условиях ацидоза при $pH = 7, 24$ на $34,0 \pm 6,0\%$ ($n=32$, $p<0,001$) (рис. 21).

Добавление гидрокарбоната натрия в питательную среду в условиях изучаемой тест-системы полностью нивелировало токсические эффекты ацидоза, как при культивировании эксплантатов ткани сетчатки, так и при культивировании эксплантатов ткани сердца. Этот факт, по-видимому,

обусловлен срабатыванием буферных систем и стабилизацией рН до стандартной отметки 7,9. Предварительные исследования показали, что гидрокарбонат натрия на рост эксплантатов исследуемых тканей влияния не оказывает.

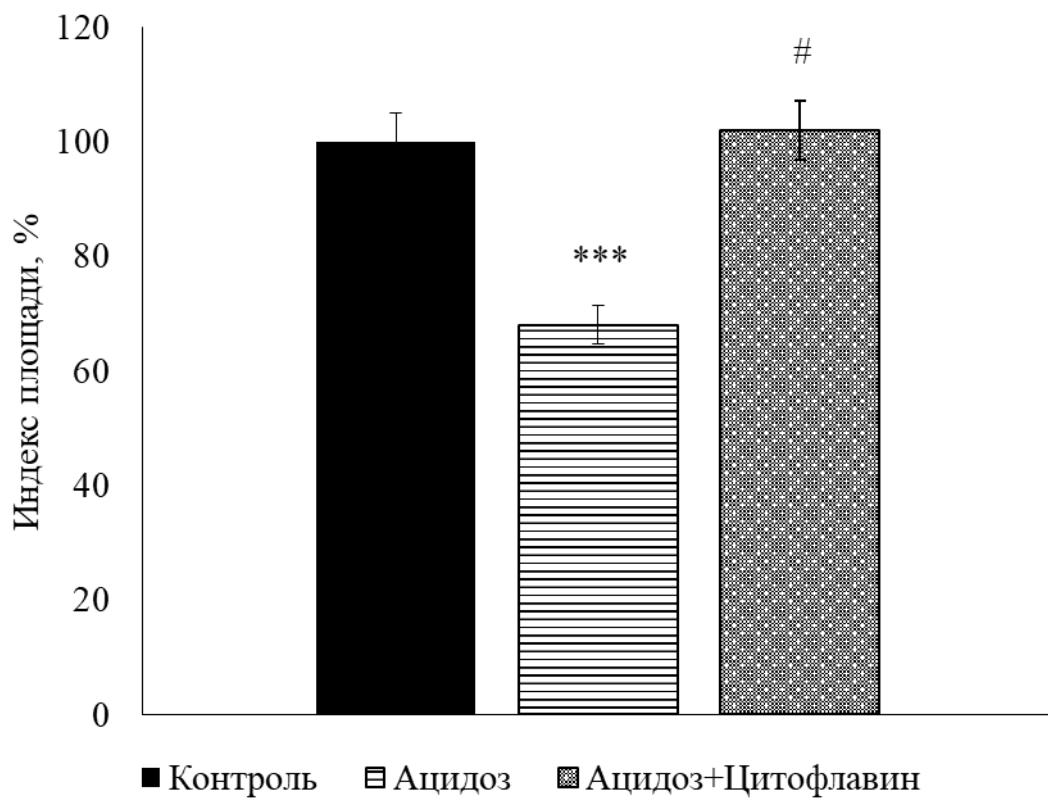


Рисунок 21. Цитофлавин в дозе 0,2 мкл/мл нивелирует кардиотоксический эффект ацидоза. ***- $p<0,001$ по сравнению с контрольным значением, $p<0,001$ по сравнению с эксплантатами, культивируемых при $pH = 7, 24$

3.3. Результаты клинической части исследования №2

3.3.1. Исследование эффективности цитофлавина для коррекции метаболического ацидоза в клинических условиях

Исследование осуществляли в 2-х группах пациентов, которые не отличались по возрасту и весу, но различались по сроку гестации. Возраст пациентов обеих групп составил – 1-2 сутки с момента рождения. Средний

вес в группе, получающей раствор цитофлавина, – $1,862 \pm 0,171$ кг, а в группе с терапией раствором гидрокарбоната натрия – $1,893 \pm 0,228$ кг.

В первый день введения цитофлавина (2 мг/мл/сутки) параметр ВЕ был $-1,99 \pm 0,645$, ко второму дню $-0,515 \pm 0,852$, на 2-й и 3-й день $1,195 \pm 0,596$ и $1,765 \pm 0,793$ соответственно. Далее наблюдалась стабилизация картины и параметр ВЕ практически не изменялся, составив на шестые сутки $1,896 \pm 0,634$ (рис. 22).

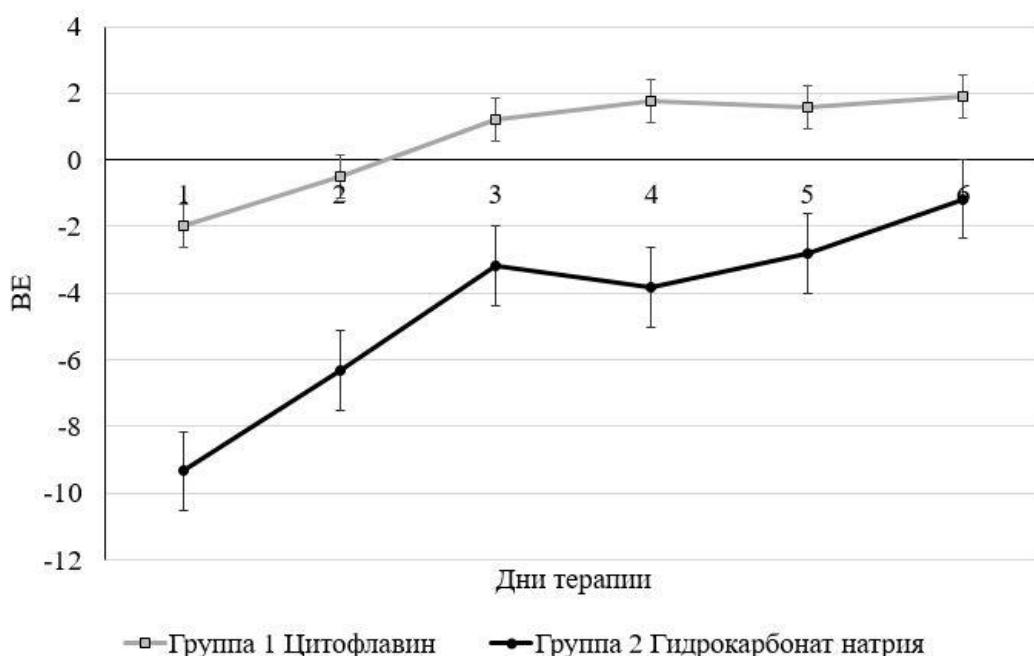


Рисунок 22. Изменение параметра ВЕ при терапии цитофлавином или раствором гидрокарбоната натрия у пациентов исследуемых групп

В группе пациентов, которые получали терапию раствором гидрокарбоната натрия, в первый день введения препарата параметр ВЕ составил $-9,345 \pm 0,783$. Во второй день введения наблюдалась положительная динамика, ВЕ был $-6,335 \pm 1,209$. На третий день введения положительная тенденция сохранилась, ВЕ составил $-3,195 \pm 0,542$. К четвертому дню терапии зарегистрировано изменение параметра до $-3,845 \pm 0,637$, по сравнению с третьими сутками динамика была отрицательной. К пятому дню терапии картина несколько изменилась и параметр ВЕ составил $2,795 \pm 0,877$.

К шестому дню терапии ВЕ стабилизирован до нормального значения – $1,175 \pm 0,849$ (рис.20).

Необходимо отметить, что в группе терапии цитофлавином стабилизация картины наступила на 2-3 день от начала терапии.

Динамика изменения лактата при терапии цитофлавином или раствором гидрокарбоната натрия в течение шести дней представлена на Рисунке 23. В группе пациентов, получавших цитофлавин, уровень лактата изменился с $3,89 \pm 0,751$ в первый день до $3,315 \pm 0,565$ на второй день введения препарата. На третий день уровень лактата составил $2,995 \pm 0,384$ и далее практически не изменялся (рис.23).

В группе у детей, получающей терапию раствором гидрокарбоната натрия, уровень лактата изменился с $5,025 \pm 0,347$ в первый день введения до $4,395 \pm 0,419$ на второй день проводимой терапии. На третий день уровень лактата был $3,76 \pm 0,431$ и далее на четвертый день снизился до значения $2,88 \pm 0,290$. На пятый и шестой день зарегистрировано дальнейшее снижение уровня лактата до $2,705 \pm 0,484$ и $2,495 \pm 0,215$ соответственно (рис. 23).

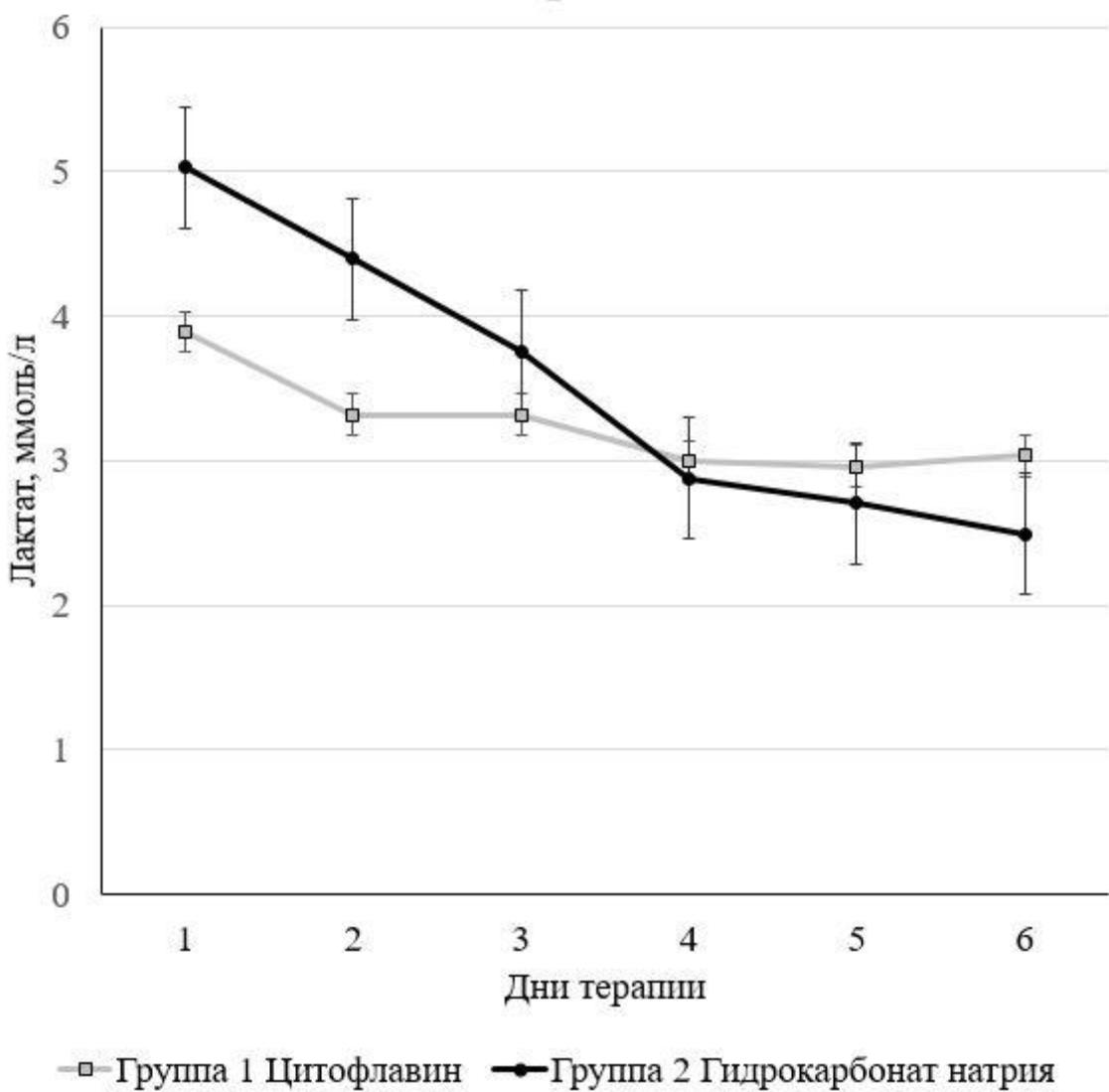


Рисунок 23. Динамика изменения лактата при терапии цитофлавином или раствором гидрокарбоната натрия у пациентов исследуемых групп

В первый день терапии цитофлавином рН крови пациентов составил $7,38 \pm 0,018$. На второй день $7,40 \pm 0,015$ и далее стабилизировался. Уровень практически не менялся до шестого дня. В группе детей, получающих терапию раствором гидрокарбоната натрия, в первый день рН был $7,29 \pm 0,020$. На второй день терапии рН составил $7,32 \pm 0,018$, на третий день $7,38 \pm 0,017$. К шестым суткам терапии значение было $7,35 \pm 0,016$ (рис. 24).

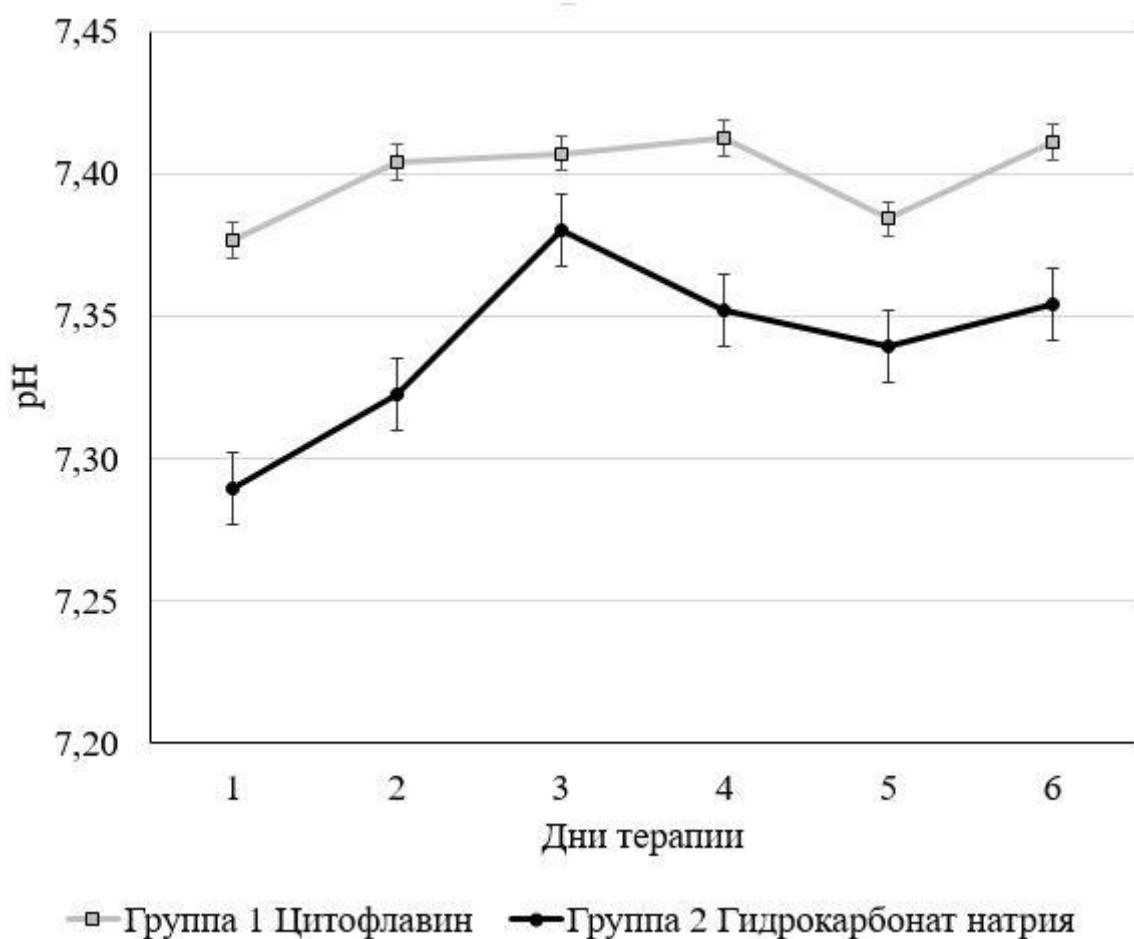


Рисунок 24. Динамика изменения pH крови при терапии цитофлавином или раствором гидрокарбоната натрия в течение 6 дней

Данные анализа, полученные при сравнении эффективности применения цитофлавина или раствора гидрокарбоната натрия для коррекции метаболического ацидоза в двух группах детей, представлены в Таблице 12.

Таблица 12. Сравнение эффективности терапии цитофлавином или раствором бикарбоната натрия по параметрам ВЕ, лактат и рН в двух группах пациентов в каждый из дней терапии с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (n1=20; n2= 20)

День терапии	ВЕ	Лактат	рН
1	0,1320 (p=0,5651)	-0,0369 (p=0,8721)	0,4717* (p=0,0398)
2	-0,1407 (p=0,5397)	-0,2142 (p=0,3504)	-0,1287 (p=0,5748)
3	0,1533 (p=0,5039)	-0,2618 (p=0,2539)	-0,1573 (p=0,4928)
4	0,0310 (p=0,8926)	-0,2058 (p=0,3696)	-0,2282 (p=0,3199)
5	-0,2313 (p=0,3134)	0,3099 (p=0,1767)	0,0247 (p=0,9144)
6	0,1632 (p=0,4770)	0,1892 (p=0,4096)	-0,6823* (p=0,0029)

Анализ результатов исследований не выявил значимых отклонений между изучаемыми параметрами. Достоверных различий по эффективности осуществляющей терапии цитофлавином и раствором гидрокарбоната натрия между изучаемыми параметрами ВЕ и уровень лактата не обнаружено. Различия в эффективности описаны только для уровня рН в 1 и 6 день исследования (таб. 12).

Проведенные исследования показали, что основной защелачивающий эффект цитофлавина в дозе 2 мл/кг/сут развивается на 2-3 сутки введения и достигает максимума к 4-5 суткам. В группе детей без цитофлавина, на фоне

прекращения защелачивающей терапии, у девяти новорожденных к 4-6 суткам все еще сохранялись лабораторные признаки метаболических нарушений (таб. 13).

Таблица 13. Сравнительный анализ лабораторных признаков уровня дефицита оснований в группе с применением цитофлавина и группы с использованием раствора гидрокарбоната натрия

Уровень ВЕ меньше 2,0	Цитофлавин	Гидрокарбонат натрия
2 сутки	8 детей	19 детей
3 сутки	3 ребенка	15 детей
4-5 сутки	5 детей	16 детей
6 сутки	0 детей	9 детей

У новорожденных с высоким уровнем лактата в крови, получавших терапию цитофлавином, лактатацидоз в большинстве случаев не развивался, грубых метаболических нарушений не было. Негативные побочные эффекты в отличие от группы детей, которые не получали терапию цитофлавином, отсутствовали.

На фоне стабилизации системы кислотно-щелочного равновесия и всех основных витальных функций детей переводили для дальнейшего лечения и наблюдения в отделение патологии новорожденных.

3.3.2. Описание клинического случая применения цитофлавина в коррекции метаболических нарушений у новорожденного недоношенного ребенка

Новорожденный недоношенный мальчик находился на лечении в ОРИТН №39а СПб ГБУЗ «Детский городской многопрофильный центр высоких медицинских технологий» на протяжении 2,5 месяцев с внутриамниотической инфекцией (основной диагноз) и средне-умеренной

асфиксии при рождении (сочетанный диагноз). Осложнениями являлись дыхательная недостаточность III степени, гипоксически-геморрагическое поражение ЦНС в виде внутрижелудочных кровоизлияний второй степени справа, третьей степени слева, субэндимальных кровоизлияний с двух сторон. У пациента также развился гидроцефальный синдром, синдром холестаза, ретинопатия недоношенных 3 стадии, плюс-болезнь II зоны в активной фазе. Фоновым состоянием была недоношенность 27 1/7 недель с очень низкой массой тела. В анамнезе присутствовал синдром дыхательных расстройств, инфекционно-токсический шок. Были проведены две операции: постановка вентрикулосубглеального дренажа справа и лазерная коагуляция сетчатки с двух сторон.

С первых суток нахождения ребенка в отделении состояние его расценивалось как крайне тяжелое. Проводилась медикаментозная седация и обезболивание фентанилом с титром дозы до 2,5 мкг/кг/час. Требовалось проведения ИВЛ с крайне жесткими параметрами вентиляции, FiO_2 – 100% с заместительной целью трижды вводился куросурф в дозировках, согласно клиническим рекомендациям, без значимого эффекта. Показатели гемодинамики были нестабильны, требовалась инотропная и вазопрессорная терапия адреналином с титром дозы до 0,3 мкг/кг/мин, норадреналином с титром дозы до 0,3 мкг/кг/мин и добутамином в дозе 20 мкг/кг/мин.

На фоне текущего инфекционного процесса у ребенка отмечалась отрицательная неврологическая динамика в виде нарастания внутрижелудочных кровоизлияний, что потребовало проведения двух гемотрансфузий на первые и вторые сутки жизни ребенка. В связи с недостаточным темпом диуреза на фоне общего состояния у ребенка постепенно развивался отечный синдром.

Лабораторно отмечались выраженные нарушения кислотно-основного состояния, метаболический и лактатацидоз. Проведение длительной защелачивающей терапии раствором гидрокарбоната натрия 4% в течение первых двух дней спровоцировало нарастающую гипернатриемию,

гидрокарбонат натрия вводили микроструйно в постоянном режиме из расчета $BE \times 0,3 \times M$ (КГ). Восстановления темпа диуреза, адекватного для поддержания стабильного отрицательного или нулевого водного баланса, не было, что повлекло за собой нарастание отёчного синдрома на фоне постоянной потребности в инфузии жизнеспасающих препаратов.

С целью улучшения клеточного дыхания и метаболизма всех клеток организма в базовую инфузию был добавлен раствор цитофлавина из расчета 2 мл/кг/сут.

На фоне дотации цитофлавина отмечена стабилизация метаболического статуса ребенка. Уже через 12 часов от начала введения отмечалось нарастание уровня буферных оснований на 5 ммоль/л, а уровень бикарбоната на 4,1 ммоль/л. Максимальный эффект развился к 3-им суткам терапии и сохранялся до отмены препарата (таб. 14). Следует отметить, что у ребенка наблюдался высокий уровень лактата в крови, который часто сопровождается нарушениями метаболического статуса, но при этом удалось избежать лактатацидоза. При лечении пациента защелачивающая терапия гидрокарбонатом натрия после начала инфузии цитофлавина не проводилась.

Таблица 14. Лабораторные данные пациента за первые трое суток

нахождения в отделении

Время введения цитофлавина	pH крови Ед	PCO ₂ Мм рт.ст.	BE Ммоль/л	Lac Ммоль/л	NaHCO ₃ Ммоль/л
Контроль	7,35	34	-6,4	7,4	19,1
Через 12 часов	7,23	68	-1,4	5,3	23,2
Через 24 часа	7,46	28	-3,1	11,1	21,7
Через 48 часов	7,43	37	0,7	6,7	24,9

С целью подтверждения косвенных системных цитопротективных свойств цитофлавина изучалась динамика содержания мочевины и креатинина в сыворотке крови, однако за 10 дней динамика снижения уровня азотемии была минимальная для достоверной значимости. Креатинин с 0,139 ммоль/л стал 0,087 ммоль/л, а мочевина с 28,8 ммоль/л снизилась до 21,18 ммоль/л. Далее после стабилизации состояния на фоне проводимого лечения в возрасте 1 месяца и 27 дней жизни ребенок был переведен в удовлетворительном состоянии в отделение патологии новорожденных (ОПН) СПб ГБУЗ «Детский городской многопрофильный центр высоких медицинских технологий».

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранний постнатальный онтогенез – важнейший период в жизни ребенка. В это время у новорожденного происходят физиологические процессы, регулирующие адаптацию организма к новой среде обитания. От постоянства внутренней среды зависит жизнь организма на клеточном, тканевом, системном и организменном уровне, поэтому важно понимать, как физиологически обоснованно регулировать стабильность гомеостаза. В последние годы проблема выхаживания новорожденных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела является приоритетным направлением современной неонатологии. Для реаниматологов, которые осуществляют интенсивную терапию и реанимацию новорожденных с первых минут жизни, помимо лечения критических состояний, одной из главных задач является усовершенствование подходов в терапии детей данной категории. Это необходимо для снижения возможной инвалидизации и улучшения качества жизни недоношенных детей.

Нами было проведено комплексное обследование 107 новорожденных недоношенных детей с разным сроком гестационного возраста. Среди них было 99 недоношенных, из которых 36 детей имели ЭНМТ, 36 детей с ОНМТ, 24 ребенка с НМТ, 3 недоношенных с весом более 2500 г. и 8 доношенных новорожденных. В 2022 году в ОРИТН №39а ДГБ №1 Санкт-Петербург поступил 181 ребенок с весом менее 1500 г (данная статистика наблюдалась и в 2020-2021 гг.). Усовершенствование интенсивной терапии с целью улучшения качества дальнейшей жизни детей из группы с максимальным риском развития инвалидности и, как следствие, нетрудоспособности, является важным и перспективными направлением в реанимации новорожденных.

В качестве осложнения, ведущего к инвалидности, мы рассматривали прогрессирование ретинопатии недоношенных. В первой части исследования было обследовано 40 новорожденных детей, среди которых были выявлены

показатели и особенности терапии, которые могут провоцировать развитие данного заболевания. Ранее в ряде работ уже была показана связь между количеством гемотрансфузий и степенью прогрессирования ретинопатии недоношенных (Büyükkaragöz, Bakkaloğlu, 2023).

Анализ полученных нами результатов показал, что все прооперированные дети ($n=6$), которые родились на сроке гестации меньше 29 недель, получали антибактериальную терапию и инотропную поддержку. Прямой связи между количеством гемотрансфузий и высоким риском развития тяжелой формы ретинопатии с дальнейшим оперативным лечением не обнаружено. У 16 детей, имевших заболевание 1 и 2 стадии, не использовалась трансфузия эритроцитной взвеси вовсе. Необходимо отметить, что все прооперированные пациенты на этапе лечения получали газовоздушную смесь с содержанием кислорода выше 45%. При этом выявленные результаты свидетельствуют о том, что параметр «число часов, проведенных с применением ИВЛ (параметр искусственная вентиляция легких)» является информативным, так как пациенты группы А достоверно отличались от пациентов групп В и С. В группе А обнаружена корреляция между параметрами ИВЛ и ГТС. В группе В обнаружена корреляция между FiO_2 и ИВЛ (0,434) и ГТС (0,438), а также положительная зависимость между весом и гестационным возрастом (ГВ). Между количеством гемотрансфузий (параметр ГТС) и гестационным возрастом (ГВ) – корреляция отрицательная, то есть прямой связи между количеством гемотрансфузий и гестационным возрастом пациента нет.

Исследования показали, что значимым параметром является вес новорожденного. Обнаружена сильная отрицательная корреляция между гестационным возрастом и степенью выраженности ретинопатии. Этот факт заслуживает особого внимания.

Серьезный вклад в прогрессирование заболевания могут вносить дополнительные параметры. Среди прооперированных детей состояние

тяжелой асфиксии перенесли 45,5% детей в группе А, в группах В и С тяжелая асфиксия была в 28% случаев.

Нами получены доказательства отсутствия связи между количеством гемотрансфузии и степенью прогрессирования ретинопатии (Лопатин и др., 2023а).

Прогрессирование ретинопатии было пропорционально кислородозависимости. Дети, получающие газовоздушную смесь с содержанием кислорода 40% и выше, были прооперированы или имели более плохой прогноз по прогрессированию данного заболевания. Сходный результат описан в работе ряда исследователей (Сидоренко и др., 2012 а, б, Ахманицкая и др., 2015).

Зарегистрирована прямая зависимость между степенью незрелости организма и наличием ретинопатии различной тяжести. Подобная тенденция была отмечена авторами ряда исследований в области детской офтальмологии (Сидоренко и др., 2012а,б; Шах и др., 2017; Аникина и др., 2020).

Учитывая новые полученные данные, мы провели дополнительное обследование 27 недоношенных детей со сроком гестации меньше 32 недель и ЭНМТ. Пациенты также были разделены на группы А, В, С. Группа А в количестве 11 человек состояла из прооперированных пациентов, которым был поставлен диагноз ретинопатия 3 стадии. Группа В в количестве 13 человек состояла из пациентов с диагнозом ретинопатия 1 и 2 стадии. Группа С в количестве 3 человек была с диагнозом сетчатка в стадии васкуляризации.

Анализ параметра кислородозависимости показал, что разницы между пациентами группы А, В и С нет. Пациенты группы А по параметру Вес не имели значимых различий с пациентами группы В и С.

Пациенты группы А провели достоверно больше часов с применением ИВЛ, чем пациенты группы В и С. Параметр ИВЛ достоверно выше в группе В по сравнению с группой С.

Различий по параметру ГТС (количество гемотрансфузий) между пациентами исследуемых групп А, В, С не обнаружено. В этой части работы также доказано, что прямой связи между количеством гемотрансфузий и гестационным возрастом пациента нет.

Гестационный возраст (параметр ГВ) у пациентов группы А не отличался от пациентов группы В, гестационный возраст пациентов группы С достоверно выше В и А. Это подтверждает результаты наших исследований в первых трех группах пациентов о связи между прогрессированием ретинопатии и гестационным возрастом.

В группе А обнаружена отрицательная корреляция между параметрами Вес к ИВЛ (-0,764), а также к ГТС (-0,754). Обнаружена корреляция между Весом и ГВ (0,905). В группе А в первой части исследования, как и во второй части, обнаружена корреляция между ИВЛ и количеством ГТС (0,774), корреляция между ИВЛ и ГВ отрицательная (-0,673). Между ГТС и ГВ корреляция отрицательная (-0,699), эти данные также совпали с результатами, полученными нами ранее. Анализ группы В показал положительную корреляцию параметра ИВЛ и ГТС (0,580), также как и в группе А.

Анализ группы С показал отрицательную корреляцию параметра FiO_2 и ГТС (-1), также как и в группе А.

Тенденции, зарегистрированные в первой части исследования, были подтверждены при изучении групп детей со сроком гестации меньше 32 недель. Обнаружено, что дети данной категории намного чаще нуждаются в применении на первоначальных этапах лечения таких препаратов как адреналин и норадреналин. Клинические результаты, полученные первой части работы, нашли свое дополнительное подтверждение.

Анализ дополнительных факторов, наличие которых в ходе реанимационных мероприятий может влиять на прогрессирование ретинопатии новорожденных, выявил положительную корреляцию между применением инотропной поддержки и степенью выраженности ретинопатии

новорожденных недоношенных, поэтому в экспериментальной части исследования мы уделили пристальное внимание препаратам катехоламиновой группы.

Инотропные препараты рутинно применяются во время лечения недоношенных, связано это в первую очередь с анатомо-физиологическими особенностями развития недоношенного ребенка, а также сопутствующим инфекционным фоном (80% новорожденных недоношенных детей, поступающих в отделение ОРИТН, переносят тот или иной вид инфекционного заболевания). Основные отрицательные эффекты применения адреналина и норадреналина у недоношенных новорожденных связаны в первую очередь с централизацией кровообращения и повышением ОПСС. Все это проявляется в усилении ишемии внутренних органов, увеличении потребности миокарда в кислороде (Александрович, Пшениснов, 2011). Вазопрессорный эффект катехоламином может провоцировать констрикцию мезентериальных сосудов и являться предрасполагающим фактором развития некротического энтероколита у недоношенных новорожденных (Крючко, 2016б). У взрослых больных сахарным диабетом естественное увеличение содержания кортизола и адреналина в крови может вызвать ремоделирование сосудов сетчатки и провоцировать развитие микроангиопатии (Сорокин, 1998). Все эти данные подтверждают непосредственное участие катехоламинов как на клеточном, так и на органном уровне в регуляции гомеостаза в целом и клеточного метаболизма в частности.

Сетчатка отличается высокой метаболической потребностью, поэтому нарушение ее гемодинамики играет критическую роль в развития и ряда глазных болезней. Патогенез ретинопатии недоношенных связан с нарушением образования новых сосудов сетчатки и изменением уже сформировавшихся сосудистых трактов. В аваскулярных зонах сетчатки прекращается образование сосудов, при этом вновь образованные сосуды прорастают в стекловидное тело (Bancalari, Schade, 2022). Несмотря на

ведущую роль неоангиогенеза, в патогенезе заболевания нельзя недооценивать влияние гуморальных факторов на клетки сетчатки. Возможность физиологической модуляции механизмов нейропротекции в терапии ретинопатии может снизить риски прогрессирования заболевания и, как следствие, уменьшить осложнения анестезиологического и хирургического вмешательства. Особую роль в регуляции ретиногенеза могут игратьmonoамины. Изучение возможности нейрогуморальной регуляции трофотропной функции вегетативной нервной системы и ее симпатического отдела, в частности, давно вызывало интерес у исследователей и клиницистов (Ажипа, 1988).

Сетчатка глаза куриного эмбриона является уникальным экспериментальным объектом, поскольку содержит все типы клеток, которые находятся в сетчатке человека. После вылупления из яйца орган зрения играет ведущую роль в жизнеобеспечении птенцов кур (цыплят). Куры относятся к выводковым птицам, им свойственно зрелорождение, бинокулярное цветное зрение и такое явление как импритинг. Гестационный возраст 10-12-дневного куриного эмбриона соответствует 19-24 неделе пренатального развития человека. В период эмбриогенеза ткань сетчатки формируется путем регуляции координации пролиферации клеток-предшественников различными нейротрансмиттерами, включая monoамины (Martins, Pearson, 2008). Органотипическое культивирование ткани сетчатки позволяет в прямых экспериментах оценивать влияние изучаемых фармакологических агентов и биологически активных веществ (Лопатина и др., 2012)

В сетчатке описаны все типы адренорецепторов: α_1 -, α_2 -, β_1 -, β_2 -, β_3 - (Ruan et al., 2020). α_1 -адренорецепторы локализованы в сосудах сетчатки преимущественно (Bohmer, Manicam, 2014). Во внешнем плексiformном слое сетчатки крысы и пигментном эпителии сетчатки крупного рогатого скота, кролика, мыши и человека, где они модулируют транспорт K^+ и Cl^- и электрические токи (Skarphedinsdottir et al., 2020). Однозначные выводы о

функциональной роли α_1 -адренорецепторов затруднены из-за противоречивых результатов исследований *in vivo*, оценивающих влияние α_1 -адренергических агонистов на регуляцию сосудистого сопротивления и перфузию сетчатки (Ruan et al., 2020). Катехоламины усиливают васкулогенез, пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток за счет стимуляции α -адренорецепторов (Tilan, Kitlinska 2010). При этом вопрос об участии α_1 -адренорецепторов в регуляции ретиногенеза остается открытым. В нашем исследовании впервые показано, что трофотропный эффект низких концентраций норадреналина реализуется через α_1 -адренорецепторы (Лопатин и др., 2023г).

Влияние адреналина на рост эксплантатов ткани сетчатки исследовали в диапазоне концентраций от 10^{-4} до 10^{-12} М. Трофотропный эффект адреналина в одной из исследуемых концентраций не обнаружил. Высокие концентрации адреналина (10^{-4} и 10^{-5} М) оказывали ретинотоксическое действие. ИП экспериментальных эксплантатов был ниже контрольного значения на 95% и 35%. Норадреналин в отличие от адреналина обнаружил ретиностимулирующий эффект в дозе 10^{-12} М. ИП был выше контрольного значения на 40%. В высоких концентрациях (10^{-4} - 10^{-5} М) норадреналин, также, как и адреналин, угнетал рост эксплантатов исследуемой ткани. Ретинотрофный эффект норадреналина сохранялся в присутствии β -адреноблокатора и отсутствовал на фоне и селективного α_1 -адреноблокатора урапидила. Таким образом, было доказано, что трофотропный эффект норадреналина реализуется через α_1 -адренорецепторы. Оценку ретинотоксического эффекта катехоламинов проводили при культивировании эксплантатов ткани сетчатки в питательной среде, содержащей катехоламины в концентрации 10^{-5} М и пропранолол (10^{-8} М). Ретинотоксический эффект как адреналина (10^{-5}), так и норадреналина (10^{-5}) на фоне β -адреноблокатора отсутствовал. Таким образом, было обнаружено, что β -адренорецепторы вовлечены в реализацию ретинотоксических эффектов высоких концентраций катехоламинов.

Данные, полученные на сетчатке 12-дневного куриного эмбриона, существенно расширяют представления о роли катехоламинов в регуляции тканевого моделирования в эмбриональный период онтогенеза. Необходимо отметить, что обнаруженные эффекты катехоламинов являются тканеспецифичными и дозозависимыми. Особый интерес представляет трофотропный эффект норадреналина в дозе 10^{-12} М на ткани сетчатки и в дозе 10^{-6} М на ткани кости (Пасатецкая и др., 2021) реализуется через α -адренорецепторы, а остео и ретинотоксический эффекты высоких концентраций при участии β -адренорецепторов. В то время как кардиотрофный эффект катехоламинов в концентрации 10^{-12} М основан на взаимодействии с $\beta 1$ -адренорецепторами. Адреналин в такой же концентрации, на рост ткани сетчатки не влиял. Аналогичный результат был получен в отношении регуляции костной ткани (Пасатецкая и др., 2017). При этом зарегистрирован его кардиотрофный эффект (Lopatina et al., 2016). Необходимо отметить, что норадреналин оказывал трофотропное действие в отношении регуляции роста ткани сердца и сетчатки в концентрации, сопоставимой с эндогенной 10^{-12} М.

β -адренорецепторы локализованы практически во всех слоях сетчатки и играют важную роль в функционировании сосудов и нейронов сетчатки (Ruan et al., 2020). Гипоксия резко увеличивает уровень катехоламинов в сетчатке. Считается, что активация β -адренорецепторов стимулирует регуляцию индуцируемого гипоксией фактора-1 (HIF-1) и VEGF. Блокатор β -адренорецепторов – пропранолол – ингибирует экспрессию VEGF, провоцируемую гипоксией, и сопровождающий ее неоваскулярный ответ в сетчатке (Bancalari, Schade, 2022). Подкожное введение пропранолола снижает уровни VEGF и HIF-1 на модели кислород-индуцированной ретинопатии у мышей. Изучение возможности использования пропранолола при лечении ретинопатии новорожденных дало неоднозначный результат. При пероральном приеме зарегистрировано снижение прогрессирования заболевания, которое сопровождалось рядом негативных побочных

эффектов. Развивалась брадикардия и артериальная гипотензия. В связи с ростом смертности в группе лечения исследование было прекращено (Filippi et al., 2013).

В многоцентровом пилотном клиническом исследовании оценивали эффективность и безопасность микрокапель (0,1% пропранолол) при лечении 2-й стадии ретинопатии у недоношенных новорожденных. На втором этапе исследование было завершено: у четырех из 19 детей наблюдалось прогрессирование заболевания (Filippi, Cavallaro, 2017). Вопрос безопасности применения пропранолола для лечения ретинопатии остается открытым. Нами зарегистрировано ретинопротекторное действие пропранолола на фоне высоких концентрации катехоламинов (Лопатин и др., 2023г).

Дозы инотропных и вазопрессорных препаратов сильно варьируют в реанимационной практике в зависимости от тех эффектов, которые реаниматологи хотят добиться. Применяемые препараты могут оказывать влияние как на α , так и на β -адренорецепторы. Так при нормальных значениях ОПСС, а также отсутствии признаков дистрибутивного шока, применяют в основном небольшие дозы адреналина, оказывающие эффект на β -адренорецепторы, с преимущественным инотропным влиянием на миокард. В случае отсутствия эффекта, наличия признаков шокового состояния дозы повышаются, или же при наличии удовлетворительных цифр фракции выброса более 60% может применяться норадреналин с выраженным α -эффектом, который приводит к вазоконстрикции сосудов, увеличению ОПСС и рефлекторному улучшению работы сердца за счет механизма Франка-Старлинга.

В некоторых ситуациях клинический эффект от применения адреналина и норадреналина снижен. Последнее вынуждает увеличивать дозы препаратов, чтобы добиться адекватного гемодинамического эффекта (Крючко, 2016а).

Важнейшим и самым часто встречающимся осложнением, которое влияет на чувствительность клеток и тканей к инотропным и вазопрессорным

препаратам является метаболический ацидоз. При метаболическом ацидозе адренорецепторы сосудов теряют чувствительность к катехоламинам, вследствие чего происходит вазодилатация. Гипоксия и ацидоз способствуют повреждению эндотелия сосудистой стенки и повышению ее проницаемости. (Леонтьева, 2022). Еще в 1988 году Дж. Д. Marsh, Т. И. Марголис и Д. Ким изучили свойства β -адренергических рецепторов и внутриклеточный pH интактных культивируемых клеток миокарда из желудочка куриного эмбриона при pH 7.4 и 6.8 и выявили снижение сократительной реакции на катехоламины во время ацидоза (Marsh et al., 1988).

При изменении pH буфера с 7,4 до 6,8 наблюдали снижение амплитуды сокращений до 80% от контроля к 20 мин. Флуориметрически определенный внутриклеточный pH снизился за аналогичный период времени с 7.11 +/- 0.05 до 6.96 +/- 0.07 (P менее 0,05). Через 45 мин при pH 6,8 сократительная реакция на 1 МКМ изопротеренола была менее половины реакции при pH 7,4.

В экспериментах на крольчатах (Амханицкая и др., 2015) и клинических исследованиях на недоношенных новорожденных доказана роль Стекловидного тела в прогрессировании ретинопатии при метаболическом ацидозе (Сидоренко и др., 2012 а, б). Показано, что метаболический ацидоз повреждает способность стекловидного тела адекватно поддерживать собственный гомеостаз, стекловидное тело превращается в резервуар недоокисленных метаболитов и провоцирует дальнейшее развитие ретинопатии (Сидоренко и др., 2012а; Амханицкая и др., 2013). Поэтому проведение ранней витреоретинальной хирургии необходимо осуществлять при первых признаках нарастающего пролиферативного синдрома (Амханицкая, 2014).

Проведение хирургического вмешательства – дополнительный стресс для детского организма, особенно в ранний постнатальный период развития. Исследования, направленные на изучение возможности оптимизации методов выхаживания недоношенных новорожденных с целью снижения

инвалидизации и снижения риска прогрессирования ретинопатии, являются актуальными.

Стандартным методом коррекции метаболического ацидоза является применение раствора гидрокарбоната натрия (Тепаев и др., 2016). При использовании в интенсивной терапии метаболического ацидоза раствора гидрокарбоната натрия зарегистрированы такие побочные эффекты, как развитие гипернатриемии, сопровождающейся различными неврологическими расстройствами, негативными реакциями со стороны сердечно-сосудистой и центральной нервной системы (Büyükkaragöz, Bakkaloğlu, 2023).

Согласно нашей рабочей гипотезе, одним из препаратов, который в перспективе можно использовать для коррекции кислотно-основного гомеостаза является цитофлавин. В состав цитофлавина входят янтарная кислота, инозин (рибоксин) и витамины (В₂ и РР). Янтарная кислота представлена в виде Na-N-метилглюкаммония сукцинатом. Это соль янтарной кислоты, которая способствует переносу янтарной кислоты через поляризованные клеточные мембранны (Коваленко, 2005). Янтарная кислота стимулирует активность дыхательной цепи митохондрий. Антигипоксантное действие обеспечивает стимуляция дыхательной цепи митохондрий (Antipenko и др., 2017). Компоненты цитофлавина активируют клеточный метаболизм, что приводит к образованию энергии, а свободный кислород начинает утилизироваться, уровень перекисных процессов уменьшается (Румянцева, Романцов, 2004; Оковитый и др., 2012; Новиков, 2013).

Согласно некоторым исследованиям, цитофлавин снижает выраженность метаболического ацидоза у пациентов с острым повреждением головного мозга, осложнившимся развитием стресс-индуцированной гипергликемии. (Неймарк и др., 2017). На модели черепно-мозговой травмы у крыс при проведении цитопротекторной терапии обнаружено влияние цитофлавина на морфологические свойства эритроцитов. Цитофлавин восстановливал геометрические размеры эритроцитов до значений интактной

группы на 7-е сутки посттравматического периода черепно-мозговой травмы. При внутрибрюшинном введении цитофлавина зарегистрировано восстановление электрофоретической подвижности эритроцитов до значений интактной группы уже к 3-им суткам эксперимента.

При исследовании функциональных показателей эритроцитов в посттравматическом периоде экспериментальной черепно-мозговой травмы обнаружено, что цитофлавин повышает электрофоретическую подвижность эритроцитов, снижает их агрегацию и концентрацию МДА на фоне увеличения активности каталазы и Na/K-АТФазы (Deriugina et al. 2017; Shumilova, 2018a,b).

Исследования эффективности цитофлавина для нормализации кислотно-основного состояния немногочисленны. Есть указания, подтверждающие наличие защелачивающих свойств цитофлавина при применении у новорождённых. В группе недоношенных новорождённых с постгипоксическими повреждениями ЦНС, получавших цитофлавин, отмечено снижение тяжести и частоты развития ишемических и геморрагических поражений ЦНС по сравнению с детьми контрольной группы (Рогаткин и др., 2011).

В результате ретроспективного анализа эффектов включения цитофлавина в схему комплексной терапии новорожденных (доношенных и недоношенных) с церебральной ишемией II–III степени отмечена положительная тенденция купирования метаболического ацидоза в виде уменьшения дефицита оснований и повышения рН (Кирьяков и др., 2018). Имеются указания на возможные цитопротекторные свойства препарата при повреждении миокарда (Карташова 2018; Ромашенко, 2021).

Изучение на клеточной культуре цитопротекторных свойств цитофлавина в прямых экспериментах в условиях ацидоза на культурах ткани не проводилось.

Для оценки эффективности применения цитофлавина и гидрокарбоната натрия при коррекции ацидоза в прямых экспериментах нами была

разработана тест-система, основанная на использовании метода органотипической культуре ткани. Цитофлавин (0,2 мкл/мл - 20 мкл/мл) на рост эксплантатов ткани сердца и сетчатки, культивируемых в питательной среде при стандартном для данных экспериментов pH=7,9, не влиял.

Введение в стандартную питательную среду цитофлавина в дозе 2 мкл/мл приводило к изменению pH среды с 7,9 до 7,6. В условиях модели ацидоза *in vitro* добавление в питательную среду цитофлавина приводило к дальнейшему снижению pH до 7,0 (значение pH до начала культивирования, перед установкой чашек Петри в CO₂ инкубатор), в то время как введение гидрокарбоната натрия сразу стабилизировало pH до исходного значения. (Лопатин и др., 2023в).

Анализ результатов экспериментов с добавлением гидрокарбоната натрия в условиях модели ацидоза *in vitro* показал, что ИП эксплантатов исследуемых тканей не отличался от контрольных значений ИП, но достоверно отличался от величины ИП эксплантатов, культивируемых в условиях ацидоза. Мы считаем, что цитопротективный эффект гидрокарбоната натрия основан на стабилизации буферной системы питательной среды непосредственно до начала культивирования.

В условиях модели ацидоза *in vitro* (pH = 7,24) при культивировании эксплантатов ткани сетчатки и сердца зарегистрированы ретино- и кардиотоксический эффекты. ИП экспериментальных эксплантатов был ниже контрольного значения на 53% и 32% соответственно.

Добавление цитофлавина (0,2 мкл/мл) устранило обнаруженные эффекты. ИП эксплантатов ткани сетчатки, зарегистрированный через трое суток культивирования в среде, содержащей цитофлавин, не отличался от контрольного значения и отличался от ИП эксплантатов культивируемых при pH=7,24 на 47%. ИП эксплантатов ткани сердца не отличался от контрольного значения и отличался от ИП эксплантатов, культивируемых в условиях ацидоза при pH=7,24 на 34%.

Использование метода органотипической культуры ткани позволило нам в прямых экспериментах зарегистрировать ретино- и кардиопротекторный эффекты цитофлавина на модели ацидоза *in vitro* (Лопатин, 2023в).

Исследования на разных модельных объектах *in vitro* и *in vivo* позволили обнаружить цитопротекторные свойства цитофлавина. Предложенная нами модель ацидоза *in vitro* имеет ряд существенных преимуществ. Она позволяет исследовать влияние изучаемых веществ в строго контролируемых условиях, нивелируя реакции со стороны целого организма; сохраняется цитоархитектоника исследуемой ткани; можно оценить цитопротекторный эффект изучаемых веществ и его механизм на значительном экспериментальном материале в краткий промежуток времени.

В состав цитофлавина входят естественные метаболиты, которые активизируют продукцию макроэргов в условиях дефицита кислорода и обладают антиоксидантной активностью (Бульон и др., 2000; Юденкова, Жуков, 2006).

Обнаруженный нами цитопротективный эффект цитофлавина предположительно связан с особенностями его фармакологической активности. Препарат активирует ферментативные процессы цикла Кребса, улучшает оксигенацию крови, регулирует утилизацию глюкозы синтез и внутриклеточное накопление АТФ и других макроэргов, опосредованно оказывает регуляторное влияние на Na/K-АТФазу (Ковалчук и др., 2018). Мы предполагаем, что цитопротекторный эффект цитофлавина опосредован действием сукцината или влиянием рибофлавина, который также входит в состав препарата.

В работе А.Ю. Козловской (с соавт., 2021) исследовали влияние рибофлавина (витамин B₂) на развитие глазного яблока эмбрионов кур на 10, 13 и 15 день эмбриогенеза. Результаты получены при использовании морфологических, морфометрических и гистологических методов исследования. Обнаружено, что на 10, 13 и 15 день эмбриогенеза сетчатка

имеет 10 слоев клеток. Получены доказательства положительного действия рибофлавина на сетчатку глаза. Авторами выдвинуто предположение, что рибофлавин увеличивает количество клеток на единицу площади. У цыплят в антенатальном онтогенезе на 10-е сутки инкубации толщина сетчатки глаза у эмбрионов в подопытной группе увеличилась на 7,1 мкм, на 13-е – на 7,07 мкм по сравнению с показателями контрольной группы (Козловская и др. 2019). Есть указания на то, что рибофлавин может направленно регулировать рост слоев сетчатки куриных эмбрионов на 10, 13, 15, 20 день эмбриогенеза (Дмитриева., 2017; Дмитриева и др., 2020).

Рядом авторов описано протективное действие цитофлавина при терапии детей с гипоксическими, ишемическими и воспалительными поражениями ЦНС. Описаны противовоспалительный и нейропротективный эффекты (Скрипченко, Егорова, 2011; Ковальчук и др., 2018).

Среди детей с перинатальными поражениями ЦНС ранняя инвалидизация встречается в 60—70% случаев (Скворцова и др., 2004; Avery et al., 2005; Шабалов 2004; Володин 2007).

Ретинопатии новорожденных встречаются у 20–40% детей, родившихся на 32-36 неделе (Нероев, Катаргина 2017; Аникина и др., 2020; Ковальчук-Ковалевская, Евсюкова 2019).

Экспериментально и клинически доказано, что метаболический ацидоз провоцирует развитие и прогрессирование ретинопатии за счет изменений в стекловидном теле (Сидоренко Е.И и др., 2012 а,б). У недоношенных и глубоко недоношенных детей серьезно выражены физиологические отклонения, которые провоцируют значительное ингибирование синтеза макроэргов в митохондриях кардиомиоцитов. Следствием этого становится преобладание углеводного компонента обмена. Формируется респираторный ацидоз с вторичным развитием тканевой гипоксии и метаболического ацидоза. Метаболический ацидоз усугубляет нарушения кровообращения во всех тканях организма, в том числе в тканях головного мозга. Нарушение стабильной ауторегуляции кровотока головного мозга сопровождается

высокой частотой ишемических и геморрагических поражений. Такие поражения в свою очередь могут спровоцировать раннюю детскую инвалидизацию. У недоношенных детей почти 85% перинатальных поражений ЦНС проявляются на первой неделе жизни (Володин, 2007).

Результаты экспериментальной части исследования получили практическое подтверждение. В клинических условиях обнаружено, что добавление в капельницу цитофлавина из расчета 2мл/кг/сут для проведения постоянной продленной инфузии эффективно устраняет проявления метаболического ацидоза. Необходимо отметить, что применение цитофлавина в инфузионной терапии у новорожденных детей первых часов жизни является безопасным и удобным по отношению к инфузии раствора гидрокарбоната натрия, для которой требуется наличие дополнительного венозного катетера.

В первый день введения цитофлавина параметр ВЕ составил $1,99 \pm 0,645$, на 3-й и 4-й день $1,195 \pm 0,596$ и $1,765 \pm 0,793$ соответственно. Далее параметр ВЕ практически не изменялся и составил на шестые сутки $1,896 \pm 0,634$.

У пациентов, получающих терапию раствором гидрокарбоната натрия, в первый день исследования параметр ВЕ составил $-9,345 \pm 0,783$. Положительная динамика зарегистрирована со второго дня проводимой терапии – ВЕ $-6,335 \pm 1,209$. Зарегистрированная тенденция сохранялась и на третий день введения. К четвертому дню терапии зарегистрировано изменение параметра до $-3,845 \pm 0,637$. Динамика была отрицательной по отношению к третьему дню терапии. На пятый и шестой день терапии картина несколько изменилась, и параметр ВЕ составил $2,795 \pm 0,877$ и $1,175 \pm 0,849$ соответственно.

Уровень лактата в группе пациентов, получающих терапию цитофлавином изменился с $3,89 \pm 0,751$ (в первый день введения) до $2,995 \pm 0,384$ на трети сутки и далее практически не изменялся. В группе, получающих терапию раствором гидрокарбоната натрия, уровень лактата в

первый составил с $5,025 \pm 0,347$ и далее медленно снижался до $3,76 \pm 0,431$ на третий и $2,495 \pm 0,215$ на шестой день соответственно.

При терапии цитофлавином в первый день рН составил $7,38 \pm 0,018$. На второй день терапии $7,40 \pm 0,015$ и далее сохранялся на этом уровне практически до шестого дня. У детей в группе, получающей терапию раствором гидрокароната натрия, в первый день рН был $7,29 \pm 0,020$. На второй день терапии раствором соды рН составил $7,32 \pm 0,018$. В третий день рН был $7,38 \pm 0,017$. К шестым суткам терапии значение было $7,35 \pm 0,016$.

В первый день терапии цитофлавином рН был $7,38 \pm 0,018$, на второй день стабилизировался до $7,40 \pm 0,015$ и далее сохранялся на этом уровне до шестого дня. В группе пациентов, получающих терапию раствором гидрокарбоната натрия, в первый день рН составил $7,29 \pm 0,020$. На второй день терапии рН был $7,32 \pm 0,018$, на третий день – $7,38 \pm 0,017$. К шестым суткам терапии рН был $7,35 \pm 0,016$.

Сравнительный анализ эффективности применения цитофлавина или раствора гидрокарбоната натрия для коррекции метаболического ацидоза в двух группах пациентов показал, что эффективность препарата цитофлавин сопоставима с использованием раствора гидрокарбоната натрия по показателям ВЕ и уровень лактата. Обнаружены достоверные различия при анализе величины рН крови.

Основной защелачивающий эффект цитофлавина в дозе 2 мл/кг/сут развивался на 2-3 сутки введения и достигал максимума к 4-5 суткам. В группе детей без цитофлавина, на фоне прекращения защелачивающей терапии, у 9 новорожденных к 4-6 суткам все еще сохранялись лабораторные признаки метаболических нарушений (Лопатин и др., 2023б; Лопатин, 2024). Данные, полученные нами в клинических условиях, – стабилизация системы кислотно-щелочного равновесия на 2-3 сутки лечения цитофлавином – совпали с результатом экспериментов на модели ацидоза *in vitro* (Лопатин и др. 2023в).

Негативные эффекты, проявляющиеся при длительном введении раствора гидрокарбоната натрия при инфузии цитофлавина, отсутствовали (Лопатин, 2024). Учитывая тот факт, что на модели ацидоза *in vitro* обнаружены ретино- и кардиопротекторные свойства цитофлавина, его применение особенно у детей со сроком гестации от 24 недель является предпочтительным.

В работе Виноградовой И.В. с соавторами (Виноградова и др., 2016) при изучении применения цитофлавина у глубоконедоношенных детей возраста $5,3 \pm 1,3$ и $6,4 \pm 1,8$ дней жизни в условиях кардиореанимации показана эффективность препарата при лечении постгипоксических повреждений миокарда и ЦНС.

В нашем исследовании средний возраст детей обеих исследуемых групп составил 1-2 дня. Дети не имели отличий по весу. Достоверных различий по гестационному возрасту детей между группами не было.

В ходе интенсивной терапии и реанимации новорожденных важно использовать возможность физиологической модуляции механизмов цитопротекции с целью предотвращения или снижения инвалидизации пациентов в постнатальном онтогенезе.

Таким образом, нами получены физиологические доказательства эффективности лечения цитофлавином метаболического ацидоза у детей сразу после рождения. Учитывая обнаруженные эффекты цитофлавина *in vitro* включение данного препарата в комплексную интенсивную терапию новорожденных недоношенных и доношенных, с целью физиологически обоснованной стабилизации системы КОС, а также ретино- и кардиопротекции, является перспективным и обоснованным решением.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что все дети, которым выполнено хирургическое лечение ретинопатии новорожденных, родились на сроке гестации меньше 29 недель и в ходе реанимационных мероприятий получали терапиюmonoаминами. В условиях органотипического культивирования ткани сетчатки экспериментально доказано, что ретиностимулирующий эффект норадреналина реализуется через модуляцию α_1 -адренорецепторов в том время, как ретинотоксические эффекты высоких концентраций катехоламинов опосредованы активацией β -адренорецепторов.

Анализ данных полученных в ходе интенсивной терапии новорожденных позволил обнаружить связь между количеством часов, проведенных пациентом при искусственной вентиляции легких и степенью прогрессирования ретинопатии. Выявлено отсутствие связи между количеством гемотрансфузий и прогрессированием ретинопатии. Показано, что содержание кислорода в газовоздушной смеси - 40% является пограничным, увеличение его содержания приводит к прогрессированию заболевания. По данным литературы метаболический ацидоз являясь наиболее распространенным осложнением при терапии новорожденных, также провоцирует прогрессирование ретинопатии. Использование модели ацидоза *in vitro* на модели срок гестационного возраста, которой соответствует 24 неделе гестации новорожденных, позволило обнаружить, что цитофлавин (0,2мкл/мл) или гидрокарбонат натрия (1,6 мг/мл) устраниют ретино и кардиотоксический эффекты метаболического ацидоза и показать, что его ретинотоксический эффект является более мощным. Эффективность цитофлавина основана на физиологической модуляции механизмов цитопroteкции.

Проведенные исследования позволили научно обосновать применение цитофлавина в ходе терапии метаболического ацидоза новорожденных, начиная с 24 недели гестации, 1-2 дня жизни.

ВЫВОДЫ

1. Анализ показал, что все прооперированные дети (17 новорожденных) родились на сроке гестации меньше 29 недель. Связи между количеством гемотрансфузий и прогрессированием ретинопатии не обнаружено. Все прооперированные пациенты на этапе лечения получали газовоздушную смесь с содержанием кислорода выше 40%, по-видимому, данный процент является пограничным. Обнаружена корреляция между количеством часов, проведенных при искусственной вентиляции легких и степенью прогрессирования ретинопатии. Все пациенты группы максимального риска (<29 недель) получали терапиюmonoаминами.

2. Норадреналин (10^{-6} М до 10^{-12} М), в отличие от адреналина (10^{-4} М до 10^{-12} М) дозозависимо регулирует рост эксплантатов ткани сетчатки 12-дневного куриного эмбриона. В концентрации (10^{-12} М) норадреналин стимулирует рост эксплантатов ткани сетчатки на 40%, эффект опосредован активацией α_1 -адренорецепторов.

3. Норадреналин (10^{-4} М) и адреналин (10^{-4} М) угнетают рост эксплантатов ткани сетчатки на 95%. Ретинотоксический эффект высоких концентраций катехоламинов обусловлен активацией β -адренорецепторов.

4. На модели ацидоза *in vitro* при снижении рН питательной среды до 7,24 зарегистрирован кардио- и ретинотоксический эффект. Ретинотоксический эффект ацидоза более выражен, индекс площади эксплантатов ткани сетчатки ниже контрольного значения на 53%, ткани сердца на 32% соответственно. Цитофлавин (0,2 мкл/мл) или гидрокарбонат натрия (1,6 мг/мл) устранили цитоксический эффект ацидоза.

5. Клинически доказано - основной защелачивающий эффект цитофлавина в дозе 2 мл/кг/сут развивается на 2-3 сутки введения и достигает максимума к 4-5 суткам. В группе детей без цитофлавина, на фоне прекращения защелачивающей терапии гидрокарбонатом натрия к 4-6 суткам все еще сохраняются лабораторные признаки метаболических нарушений. У детей с высоким уровнем лактата в крови, получавших терапию

цитофлавином, в 75% лактатацидоз не развивался, грубых метаболических нарушений в отличие от группы детей, которые не получали терапию цитофлавином, не было.

6. Впервые на модели ацидоза *in vitro*, научно обосновано наличие у цитофлавина ретино- и кардиопротекторных свойств на объекте, гестационный возраст которого соответствует 24 неделе развития плода человека. Корреляционный анализ клинических данных не выявил различий между эффективностью терапии метаболического ацидоза у новорожденных 1-2 дня жизни, проводимой с помощью цитофлавина и гидрокарбоната натрия.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Разработанная оригинальная авторская модель метаболического ацидоза *in vitro* может использоваться для тестирования лекарственных препаратов, регулирующих систему кислотно-щелочного равновесия и потенциально влияющих на клеточный метаболизм.

Результаты проведенного клинико-экспериментального исследования могут дополнить существующие клинические рекомендации при оказании реанимации и интенсивной терапии новорожденных с разным сроком гестации.

Поскольку длительность часов ИВЛ у пациентов с ретинопатией достоверно выше, чем у недоношенных без данного заболевания, ранняя экстубация у недоношенных новорожденных является приемлемой в случае проведения респираторной терапии. Однако в первую очередь надо опираться на возможность поддержания адекватного самостоятельного спонтанного дыхания. Поддержание уровня дотации кислорода не должно превышать 40-45%. Необходимо учитывать, что при применении большего процента кислорода в подаваемой газовоздушной смеси риски развития заболевания повышаются.

Проведение гемотрансфузии должно применяться согласно клиническим рекомендациям.

Применение инотропных и вазопрессорных препаратов должно быть рационально, проводиться под контролем ЭХОКГ и при оценке совокупности всех параметров новорожденного ребенка. Бездумное применение больших дозировок в разы повышает риски развития осложнений, которые были описаны выше. Так как ретинотрофотропный эффект норадреналина обусловлен влиянием на $\alpha 1$ -адренорецепторы, то рекомендуется избегать применения больших доз данного препарата.

Применение цитофлавина в инфузционной терапии у новорожденных детей первых часов жизни является эффективным, безопасным и удобным, не требует установки дополнительного венозного катетера.

Цитофлавин рекомендуется добавлять в капельницу из расчета 2мл/кг/сут для проведения постоянной продленной инфузии. В случае грубых и выраженных метаболических расстройств рекомендуется комплексная инфузия как гидрокарбоната натрия, так и цитофлавина. Рекомендуется применение цитофлавина всем новорожденным недоношенным детям с момента их поступления в отделение ОРИТН. Необходимо проводить лабораторный контроль у новорожденных на данной терапии не реже 1 раза в 2 дня с целью избегания развития метаболического алкалоза. При появлении признаков метаболического алкалоза препарат следует отменить.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аванесян, Р. И. Педиатрия. Национальное руководство в 2 томах // М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2009.
2. Александрович, Ю.С. Применение инотропных и вазопрессорных препаратов при критических состояниях у новорожденных / Ю.С. Александрович, К.В. Пшенисов // Российский вестник детской хирургии и анестезиологии и реаниматологии. – 2011. – С. 106-112.
3. Альфонсова, Е.В. Роль экспериментального лактат-ацидоза в развитии структурных нарушений селезенки / Е.В. Альфонсова, Н.В. Бочкарникова // Ученые записки ЗАБГГПУ. — 2011. — Т.36, № 1. – С. 5–13.
4. Альфонсова, Е.В. Структурная организация миокарда при метаболическом ацидозе / Е.В. Альфонсова, Л.А. Забродина // Кубанский научный медицинский вестник. — 2013. — Т. 136, № 1. — С. 27–30.
5. Алямовская, Г.А. Особенности физического развития глубоконедоношенных детей / Г.А. Алямовская, Е.С. Кешишян, Е.С. Сахарова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2015. – Т. 60, №. 4. – С. 11-18.
6. Амирова, В.Р. Состояние здоровья детей первого года жизни, родившиеся недоношенными. / В.Р. Амирова, А.Я. Валиулина, А.А. Залалова [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2019. – Т. 14. – №. 1 (79). – С. 69-77.
7. Амханицкая, Л.И. Лабораторное исследование стекловидного тела у детей с ретинопатией недоношенных как дополнительный критерий прогноза заболевания / Л.И.Амханицкая, Н.А. Соколова, Г.В. Николаева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 9. – С. 96-97.

8. Амханицкая, Л.И. Изменение стекловидного тела при различных патологических состояниях глазного яблока / Л.И. Амханицкая // Российская детская офтальмология. – 2014. – № 2. – С. 41-50.
9. Амханицкая, Л.И. Изменение парциального давления кислорода в стекловидном теле и артериальной крови у крольчат в зависимости от концентрации кислорода во вдыхаемой смеси / Л.И. Амханицкая, Г.В. Николаева, Н.А. Соколова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 159. – № 3. – С. 308-310.
10. Аникина, А.А. Анализ частоты встречаемости ретинопатии недоношенных, родившихся при сроке гестации менее 34 недель / А.А. Аникина, Е.Ю. Муц, В.Н. Боровкова [и др.] // Смоленский медицинский альманах. – 2020. – №2. – С. 21-24.
11. Антонов, А.Г. Эффективность применения цитофлавина в интенсивной терапии недоношенных новорожденных с церебральной ишемией / А.Г. Антонов, А.С. Буркова, В.Л. Им [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2010. – № 1. – С. 26-32.
12. Афанасьев, В.В. Цитофлавин в интенсивной терапии / В.В. Афанасьев // Пособие для врачей. Санкт-Петербург. – 2005. – С. 36.
13. Байбарина, Е.Н. Дети с экстремально низкой массой тела: основные направления совершенствования помощи / Е.Н. Байбарина // Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии: материалы III Всероссийского образовательного конгресса. – М., 2010. – С. 140-142.
14. Байбарина, Е.Н. Переход на новые правила регистрации рождения детей в соответствии с критериями, рекомендованными Всемирной организацией здравоохранения: исторические, медико-экономические и организационные аспекты / Е.Н. Байбарина, Д.Н. Дегтярев // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2011. – № 6. – С. 6-9.
15. Байкова, Л.Ф. Состояние здоровья детей старшего дошкольного возраста, родившихся недоношенными / Л.Ф. Байкова, В.Р. Амирова,

- С.А. Пашков // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – № 2. – С. 326-330.
- 16.Баранов, А.А. Недоношенные дети в детстве и отрочестве (медицинско-психосоциальное исследование): к IX съезду педиатров России / А.А. Баранов, В.Ю. Альбицкий, С.Я. Волгина [и др.] // Союз педиатров России. – М., 2001. – С.188.
- 17.Баранов, А.А. Состояние здоровья детей в Российской Федерации / А.А. Баранов // Педиатрия. – 2012. – Т. 91, № 3. – С. 9-14.
18. Беляева, И.А. Современные проблемы выхаживания недоношенных детей: вопросы питания / И.А. Беляева, Г.В. Яцык, Н.Д. Одинаева [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т. 10, № 1. – С. 134-139.
- 19.Беляевский, А.Д. Интенсивная терапия при сочетанных нарушениях кислотно-щелочного состояния и водно-электролитного обмена / А.Д. Беляевский, Г.Д. Монченко // Ростов-Дон.: Изд-во РГМУ. – 1997.
- 20.Болевич, С.Б. Особенности течения свободнорадикальных процессов у больных с механической желтухой и методы их коррекции / С.Б. Болевич, В.А. Ступин, Т.В. Гахраманов [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2010. – №7. – С. 65–70.
- 21.Бульон, В.В. Коррекция последствий постишемического реперфузионного повреждения головного мозга цитофлавином / В.В. Бульон, Л.С. Хныченко, Н.С. Сапронов // Бюлл. Эксперим. биологии и медицины. – 2000. – Т.129, №2. – С.149-151.
- 22.Виноградова, И.В. Опыт применения цитофлавина у глубоконедоношенных детей / И.В. Виноградова, А.Н. Белова, М.В. Краснов [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – №2. – С. 100-104.
- 23.Володин Н.Н. Неонатология. Национальное руководство / В.В. Володин.— М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. — 848 с.

24. Гавриченко, А.В. Миопротективное действие неквантового ацетилхолина: модель миопатического компонента хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии *in vitro* / А.В. Гавриченко, Н.А. Пасатецкая, М.Г. Соколова [и др.] // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2022. – Т. 16(3) – С. 41–46.
25. Гиляров, М.Ю. Применение добутамина в кардиологической практике / М.Ю. Гиляров // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2008. – Т. 4, №5. – С. 67 – 70.
26. Демьянова, Т. Г. Наблюдение за глубоко недоношенными детьми на первом году жизни. / Т. Г. Демьянова, Л. Я. Григорьянц, Т. Г. Авдеева [и др.] // М. Медпрактика. – 2006. – 148 с.
27. Дмитриева, О.С. Архитектоника структурных элементов зрительного анализатора эмбрионов кур в онтогенезе / О.С. Дмитриева, Ф.И. Сулейманов, Е.В. Окатьев [и др.] // Norwegian Journal of development of the International Science. – 2017. – № 4. – С. 96–100.
28. Дмитриева, О.С. Влияние рибофлавина на зрительный анализатор эмбрионов кур в антенатальном онтогенезе / О.С. Дмитриева // Известия Великолукской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. – № 3. – С. 17–22.
29. Дмитриева, О.С. Гистологические изменения в сетчатке глаза куриного эмбриона на второй и третьей неделе антенатального развития / О.С. Дмитриева, Ф.И. Сулейманов, Т.М. Половинцева // Иппология и ветеринария. – 2018. – № 1 (27). – С. 70–75.
30. Дмитриева, О.С. Почасовое исследование толщины сетчатки глаза куриного эмбриона в антенатальном онтогенезе. / О.С. Дмитриева, А.Ю. Козловская, Н.А. Щербакова [и др.] // Аграрная наука. – 2020. – №9. – С.32-36.

31. Еременко, А.А. Применение добутамина в клинической практике / А.А. Еременко // Атмосфера. Новости кардиологии. – 2009. – №. 3. – С. 31-34.
- 32.Иванов, Д.О. Клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям, родившимся в сроках гестации 22–27 недель / Д.О. Иванов, О.Г. Капустина, Т.К. Мавропуло [и др.] // Российская ассоциация специалистов перинатальной медицины. – 2016. – С. 10-14, 53-62.
33. Карташова, Е.А. Сравнительная оценка молекулярных эффектов цитопротекторов в комплексной терапии ишемической болезни сердца / Е.А. Карташова // Российский кардиологический журнал. – 2009. – №5. – С. 62-67.
- 34.Кирьяков, К.С. Коррекция кислотно-основного состояния при гипоксически-ишемическом поражении головного мозга у новорожденных / К.С. Кирьяков, Р. Б. Хатагова, Е. В. Тризна [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2018. – Т. 63. – №. 1. – С. 40-45.
- 35.Ключева Е.Г. Применение препарата цитофлавин в неврологии / Е.Г. Ключева // СПб.: Тактик-Студио, 2008. — 24 с.
- 36.Коваленко, А.Л. Фармакологическая активность оригинальных лекарственных препаратов на основе 1-дезокси-1(Н-метиламино)-D-глюцитола : автореф. дис. ... докт. биол. наук: 14.00.25 / Коваленко Алексей Леонидович. – Санкт-Петербург. – 2005. – С. 52.
- 37.Ковальчук, В.В. Применение препарата цитофлавин в неонатологии и педиатрии как фактор повышения эффективности терапии пациентов с поражением центральной нервной системы различной этиологии / В.В. Ковальчук, И.Б. Зуева, К.В. Нестерин [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2018. –Т. 118, № 5-2. – С. 46-50.
- 38.Козловская, А.Ю. Морфологические изменения сетчатки глаза у эмбрионов кур на 10-е, 13-е и 15-е сутки инкубации / А.Ю. Козловская,

- Н.А. Щербакова, О.С. Дмитриева // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2019. – №. 2 (76). – С. 153-155.
39. Коротаева, Н.В. Мониторинг развития детей, реконвалесцентов реанимации новорожденных: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / Коротаева Наталья Владимировна. – М. – 2010. – С. 23.
40. Крамарь, С.Б. Структурная организация сердца в онтогенезе птиц / С.Б. Крамарь // Морфология развивающегося сердца (структура, ультраструктура, метаболизм). – Днепропетровск. – 1995. – С. 93-110.
41. Крючко, Д.С. Артериальная гипотония и шок у новорожденных. Протокол отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных отдела неонатологии и педиатрии ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. Акад. ВИ Кулакова» Минздрава России / Д.С. Крючко, О.В. Ионов, Е.Н. Балашова [и др.] // Неонатология: Новости. Мнения. Обучение. – 2016а. – №. 2 (12). – С. 108-122.
42. Крючко, Д.С. Артериальная гипотония у новорожденных. Механизмы развития, дифференциальная терапия, прогноз: автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.01.08 / Крючко Дарья Сергеевна. – М. – 2016б. – С. 46.
43. Курносов, Ю.В. Глубоко недоношенные новорожденные с очень низкой и экстремально низкой массой тела, перенесшие транспортировку в ранние и поздние сроки из отдаленных районов (на примере Приморского края / Ю.В. Курносов, Н.Б. Мерзлова, Л.Н. Винокурова // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 8. – С. 107-109.
44. Лазарев, В.В. Первый опыт применения реамберина в анестезиологическом обеспечении новорожденных / В.В. Лазарев, В.А. Михельсон, И.А. Хелимская [и др.] // Детская хирургия. – 2003. – №6. – С. 34–38.

45. Лазарев, В.В. Сукцинат содержащие препараты в структуре терапевтических средств у больных в неотложных состояниях (Обзор литературы) / В.В. Лазарев, И.В. Гадомский // Российский вестник детской хирургии и анестезиологии и реаниматологии. – 2016. – Т. 6, №. 3. – С. 111-116.
46. Леонтьева, Н.В. Ацидоз / Н.В. Леонтьева // Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины. – 2022. – Т. 37, №. 3. – С. 10-20.
47. Лопатин, А. И. Анализ влияния интенсивной терапии недоношенных на развитие ретинопатии новорожденных / А. И. Лопатин, В. В. Андреев, Н. А. Пасатецкая [и др.] // Медицинский алфавит. – 2023а. – № 26. – С. 35-41.
48. Лопатин, А.И. Применение цитофлавина для коррекции метаболических нарушений у новорожденных в критических состояниях / А.И. Лопатин, Н.А. Пасатецкая, Е.В. Лопатина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2023б. – № 5. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=32980> (дата обращения: 23.10.2023)
49. Лопатин, А.И. Тест система для оценки эффективности препаратов, применяемых для коррекции кислотно – основного состояния новорожденных детей / А.И. Лопатин, Н.А. Пасатецкая, Е.Г. Удовенко [и др.] // Медицинская наука и образование Урала. – 2023в. – Т. 24, № 4. – С. 122-127.
50. Лопатин, А.И. Участие адренорецепторов в регуляции роста эмбриональной сетчатки / А.И. Лопатин, Н.А. Пасатецкая, Е.Г. Удовенко [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал – 2023г. – Т.20, № 3. – С. 31-36.
51. Лопатин, А.И. Физиологическое обоснование применения цитофлавина в ходе интенсивной терапии и реанимации новорожденных / А.И. Лопатин // Интегративная физиология – 2024. – №3. – С. 24-30.

- 52.Лопатина, Е.В. Участие сердечных гликозидов в регуляции роста эксплантатов ткани сетчатки / Е.В. Лопатина, А.В. Карецкий, В.А. Пеннияйнен [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 146, №12. – С. 651-653.
- 53.Лопатина, Е. В. Исследование влияния норадреналина и селективных β_1 -адреноблокаторов на рост эксплантатов ткани сетчатки / Е. В. Лопатина, В.А. Пеннияйнен, В.А. Цырлин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – №. 153 (1). – С. 56-58.
- 54.Лопатина, Е.В. Использование метода реконструкции оптических срезов для оценки трофотропных эффектов адреналина и атенолола / Е.В. Лопатина, А.В. Кипенко, В.А. Пеннияйнен [и др.] // Росс. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. – 2015. – Т.101, №9. – С.1022–1031.
- 55.Лопатина, Е.В. Участие ацетилхолина и Na^+,K^+ -АТФазы в регуляции роста скелетных мышц куриного эмбриона / Е.В. Лопатина, А.В. Гавриченко, Н.А. Пасатецкая // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2023. Т.109– № 2. – С. 1-12.
- 56.Макогон, С.И. Сахарный диабет как фактор риска развития ретинопатии недоношенных. Обзор литературы / С.И. Макогон, Н.В. Горбачева, Ю.С. Хлопкова // Сахарный диабет. — 2024. — Т. 27, № 5. — С. 487-497.
- 57.Маричев, А.О. Особенности раннего послеоперационного периода кардиохирургических вмешательств при различных формах метаболического ацидоза: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.20 / Маричев Александр Олегович. – Санкт-Петербург. – 2020. – С. 24.
- 58.Миткинов, О.Э. Тактика при артериальной гипотензии у новорожденных с экстремально низким гестационным возрастом / О.Э.

- Миткинов // Российский вестник детской хирургии и анестезиологии и реаниматологии. – 2017. – Т. 7, №. 4.– С. 69 – 77.
59. Молостова, Т.Н. Генетические различия $\beta 2$ -адренорецепторов и их клиническое значение / Т.Н. Молостова // Практическая пульмонология – 2017. – №. 2. – С 63-71.
60. Неймарк, М.И. Влияние цитофлавина на выраженность метаболического ацидоза у пациентов с острым повреждением головного мозга, осложнившимся развитием стресс-индуцированной гипергликемии / М.И. Неймарк, И.А. Захарченко, Р.Б. Абдрашитов [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – Т. 80, № 7 – С. 99.
61. Некрасов, Н.В. Медико-социальные аспекты инвалидности у недоношенных детей / Н.В. Некрасов, Е.А. Федянина, О.А. Плотникова // Медико-социальная экспертиза и реабилитация. – 2013. – №. 4. – С. 15-17.
62. Новиков, В. Е. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия / В.Е. Новиков, О.С. Левченкова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 5. – С. 47.
63. Оболенский, С.В. Реамберин - новое средство для инфузионной терапии в практике медицины критических состояний: методические рекомендации / С.В. Оболенский. – СПб., 2003. – С. 23.
64. Оковитый, С.В. Антигипоксанты в современной клинической практике / С.В. Оковитый, Д.С. Суханов, В.А. Заплутанов [и др.] // Клиническая медицина. – 2012. – № 9. – С. 63 – 68.
65. Пасатецкая, Н.А. Ремоделирование костной ткани: возможный вклад адреналина / Н.А. Пасатецкая, А.И. Лопатин, А.В. Кипенко [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2017. – №4 (56). – С. 47-50.

- 66.Пасатецкая, Н.А. Рецептор – опосредованная модуляция сигнальной функции Na^+, K^+ -АТФазы: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.03.01 / Пасатецкая Наталья Анатольевна. – Санкт-Петербург. – 2019. – С. 23.
- 67.Пасатецкая, Н.А. Норадреналин регулирует остеогенез в эмбриональный период развития / Н.А. Пасатецкая, А.И. Лопатин, С.И. Климшин // Гены и клетки. – 2021. – №16 (4). – С. 50-53.
- 68.Патент № 2676715 С1 Российская Федерация, МПК A61K 35/00. способ коррекции метаболического ацидоза у доношенных новорожденных детей, родившихся в состоянии асфиксии / О. В. Ковальчук-Ковалевская, И. И. Евсюкова; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта". № 2018107886 : заявл. 02.03.2018 : опубл. 10.01.2019 – С. 8.
- 69.Перцева, В.А. Оценка перинатальных факторов риска у недоношенных с экстремально низкой и очень низкой массой тела / В.А. Перцева, А.С. Петрова, Н.И. Захарова [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2011. – № 3. – С. 20-24.
- 70.Приказ Минздрава России от 15 ноября 2012 г. N 921н Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю "Неонатология": Москва – 2012. – 21 с.
- 71.Приказ от 15 ноября 2012 г. N 919н Об утверждении порядка оказания медицинской помощи взрослому населению по профилю "Аnestезиология и Реаниматология" : Москва – 2012. – 48 с.
- 72.Раджабова, А.Б. Особенности органа зрения недоношенных новорожденных / А.Б. Раджабова, Х.Д. Карим-Заде, Д.С. Додхоеев // Медицинский вестник Национальной академии наук Таджикистана. – 2018. – Т. 8. – №. 3 (27). – С. 383-388.
- 73.Ретинопатия недоношенных, активная фаза: клинические рекомендации (протокол лечения) МКБ 10: H35.2, ID: KP107 / В.В. Нероев, Л.А. Катаргина. – Москва: Минздрав России, 2017. – 32 с.

74. Рогаткин, С.О. Современные подходы к церебропротекторной терапии недоношенных новорожденных в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии / С.О. Рогаткин, Н.Н. Володин, М.Г. Дегтярева [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2011. – №111(1). – С. 27-32.
75. Ромащенко, О. В. Персонализированные подходы к назначению триметазидина в качестве цитопротектора у пациентов с ишемической болезнью сердца / О.В. Ромащенко // Российский кардиологический журнал. – 2021. – Т. 26, №6 – С. 106-114.
76. Румянцева, С.А. Влияние цитофлавина на параметры свободнорадикального гомеостаза / С.А. Румянцева, М.Г. Романцов // Врач. – 2004. – Т. 11. – С. 59-60.
77. Савченко, О.А. Оценка эффективности комплексной терапии перинатальных заболеваний новорожденных с экстремально низкой массой тела / О.А. Савченко, Е.Б. Павлинова, А.Г. Мингаирова [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2019. – №64 (1-2). – С.20-25.
78. Сахарова, Е.С. Недоношенность как медико-социальная проблема здравоохранения. Ч. I / Е.С. Сахарова, Е.С. Кешишян, Г.А. Алямовская // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т. 62, № 3. – С. 15-19.
79. Сидоренко, Е.И. Биохимический дисбаланс стекловидного тела в патогенезе ретинопатии недоношенных / Е.И. Сидоренко, Г.В. Николаева, Л.И. Амханицкая [и др.] // Российская детская офтальмология. – 2012а. – № 1-2. – С. 10-13.
80. Сидоренко, Е.И. Новые аспекты патогенеза ретинопатии недоношенных с позиции гомеостаза стекловидного тела / Е.И. Сидоренко, Г.В. Николаева, Л.И. Амханицкая [и др.] // Российский офтальмологический журнал. – 2012б. – Т. 5, № 3. – С. 53-55.

81. Скворцова, В.А. Руководство по неонатологии / В.А. Скворцова, В.М. Студеникин, В.М. Студеникин [и др.] ; Под редакцией Г. В. Яцык. – Москва : Гардарики, 2004. – 334 с.
82. Скворцова, В.И. Церебральная ишемия и нейропротекция / В.И. Скворцова, Н.В. Ефремова, Н.А. Шамалов [и др.] // Медицина: Инсульт. – 2006. – Т.2, №13. – С. 35–42.
83. Скрипченко, Н.В. Применение цитофлавина в комплексной терапии нейроинфекций у детей / Н.В. Скрипченко, Е.С. Егорова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2011. – Т.111, №9. – С. 28-31.
84. Соколова, М.Г Роль ростовых полипептидных соединений в механизме пластичности ЦНС у больных наследственной патологией периферического двигательного нейрона / М.Г. Соколова, С.В. Лобзин В.А. Пенниайнен [и др.] // Биомедицинская химия. – 2017. – Т.63, № 5. – С.1-4.
85. Сорокин, Е.Л. Значение симпатико-адреналовой системы и коры надпочечников в развитии диабетических микроангиопатий сетчатки / Е.Л. Сорокин // Проблемы эндокринологии. – 1998. – Т. 44, №. 6. – С. 6-9.
86. Сорокина, З.Х. Эффективность различных организационных подходов к родоразрешению и выхаживанию новорожденных экстремально низкой массы тела (перспективно ориентированный анализ) / З.Х. Сорокина, А.Н. Юсупова // Проблемы управления здравоохранением. – 2010. – № 3. – С. 80-85.
87. Тепаев, Р. Ф. Метаболический ацидоз: диагностика и лечение / Р. Ф. Тепаев, В. А. Ластовка, А. В. Пыталь [и др.] // Педиатрическая фармакология. — 2016. — Т.13, № 4. — С. 384–389.

- 88.Федин, А.И. Антиоксидантная и энергопротекторная терапия ишемического инсульта / А.И. Федин, С.А. Румянцева, О.Р. Кузнецов [и др] // Методическое пособие. – М. – 2004. – 48 с.
89. Федин, А.И. Эффективность нейрометаболического протектора Цитофлавина при инфарктах мозга / А.И. Федин, С.А. Румянцева, М.А. Пирадов [и др] // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2005. – №1. – С. 13–19.
- 90.Харкевич, Д.А. Основы фармакологии [Электронный ресурс]: учебник / Д.А.Харкевич. – 2-е изд., испр. и доп. –М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 361 с.
91. Чупров, П.И. Нарушения кислотно-основного состояния организма человека и их коррекция. Учебно-методическое пособие / П.И. Чупров, А.Д. Стемпковский — 2-е изд. дополненное. — Астрахань: АГМА. — 2008. — 92 с.
- 92.Шабалов, Н.П. Неонатология : Учебн. пособие : В 2 т. / Н.П.Шабалов. — Т. I. — 3-е изд., испр. и доп. — М. : МЕДпресс-информ, 2004. — 608 с.
- 93.Шабалов, Н.П. Детские болезни: учеб. для вузов в 2-х томах / Н.П. Шабалов. – 7-е изд., перераб. и доп. — СПб.: Питер, 2013. — 880 с.
- 94.Шанин, В.Ю. Типовые патологические процессы / В.Ю. Шанин. — СПб: Специальная литература, 1996. — С. 280.
- 95.Шах, П.К. Ретинопатия недоношенных: прошлое, настоящее и будущее / П.К. Шах, В. Прабху, С.С. Карандикар [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2017. – №2. – С. 20-33.
- 96.Шилов, В.В. Коррекция гипоксии и ее последствий у больных с острой церебральной недостаточностью вследствие острых отравлений / В.В. Шилов, Б.В. Батоцыренов, М.В. Александров [и др.] // Терапевтический архив. – 2011. – №10. – С. 58–60.

- 97.Шмаков, А.Н. Шок: волемическая и инотропная поддержка / А.Н. Шмаков // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии – 2011. – №3 – С. 43-52.
- 98.Юденкова, О. Применение цитофлавина в первые часы острой цереброваскулярной ишемии / О. Юденкова, В. Жуков // Врач. – 2006. – №5. – С. 67-70.
- 99.Яцык, Г.В. Принципы этапного выхаживания недоношенных детей / Г.В. Яцык, Ю.С. Акоев, Е.В. Антонова [и др.]; Под редакцией Л.С. Намазовой-Барановой. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью Издательство "Педиатръ", 2013. – 240 с.
100. Adrogi, H.J. Management of life — threatening acid-base disorders first of two parts / H.J. Adrogi, N.E. Madias // The new england journal of medicine. — 1998. — Vol. 338, № 1. – P. 26-34
101. Antipenko, E.A. Effects of nonspecific cytoprotective treatment on stress resistance and compensatory potential in patients with chronic cerebral ischemia / E.A. Antipenko, A.V. Deryugina, A.V. Gustov // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2017. – Vol. 47, N. 7. – P. 817 – 820.
102. Arpino, C. Preterm birth and neurodevelopmental outcome: a review / C. Arpino, E. Compagnone, M.L. Montanaro [et al.] // Childs Nerv. Syst. – 2010. – Vol. 26, № 9. – P. 1139-49.
103. Avery, B. Avery's neonatology: pathophysiology and management of the newborn (6th edition) / B. Avery, G. MacDonald, M. Mullett, M. Seshia – Philadelphia; Lippincott Williams & Wilkins, 2005. – 1748p.
104. Bancalari, A. Update in the Treatment of Retinopathy of Prematurity / A. Bancalari, R. Schade // Am J Perinatol. – 2022. – Vol. 39, №1 – P.22-30.
105. Batton, B. Blood pressure during the first 7 days in premature infants born at postmenstrual age 23 to 25 weeks / D. Batton T., Riggs // Am J Perinatol. – 2007 . – Vol. 24. – P. 107–150.

106. Batton, B. Early blood pressure, antihypotensive therapy and outcomes at 18-22 months' corrected age in extremely preterm infants. / B. Batton, L. Li, N.S. Newman [et al.] // Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed. – 2016. – Vol.101. – P.201–6.
107. Berdahl, J. Effect of bicarbonate on retinal vasculature and acidosis-induced retinopathy in the neonatal rat / J. Berdahl, D. Leske, M. Fautsch, [et al.] // Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology – 2005. – Vol. 243. – P. 367-373.
108. Berger, D.S. Disparate effects of three types of extracellular acidosis on left ventricular function / D.S. Berger, S.K. Fellner, K.A. Robinson [et al.] // Am. J. Physiol. — 1999 – Vol. 276, № 2. — P. 582–594.
109. Bersentes, T.J. Effects of acute acidosis on renal hemodynamics / T.J. Bersentes, D.H. Simmons // Am J Physiol. — 1967. — Vol. 212. — P. 633–640.
110. Bohmer, T. The alpha1b-adrenoceptor subtype mediates adrenergic vasoconstriction in mouse retinal arterioles with damaged endothelium / T. Bohmer, C. Manicam // Br. J. Pharmacol. – 2014 – Vol. 171 – P. 3858–3867.
111. Brodde, O.E. Beta-1 and beta-2 adrenoceptor polymorphisms: functional importance, impact on cardiovascular diseases and drug responses / O.E. Brodde // Pharmacol Ther. – 2008. – Vol.117, №1. – P.1-29.
112. Büyükkaragöz, B. Serum osmolality and hyperosmolar states / B. Büyükkaragöz, S. Bakkaloğlu // Pediatric Nephrology. – 2023. – Vol.38, №4. – P. 1013-1025.
113. Cruz, M. M. Analysis of perinatal mortality in newborn infants with a birth weight of less than 1000 grams in Hospital San Cecilio in Granada (Spain) over the 1991–2010 period / M.M. Cruz, A.R. Redondo, A.A. Caño [et al.] // Arch. Argent Pediatr. — 2013. — Vol.111, №1. — P. 45–52.
114. Deeney, B.T. Epinephrine evokes shortening of human airway smooth muscle cells following β 2 adrenergic receptor desensitization / B.T.

- Deeney, G. Cao, S. Orfanos [et al.] // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2022. – Vol.323, №2 – P. 142-151.
115. Dempsey, E. The use of cardiotonic drugs in neonates / E. Dempsey, H. Rabe // Clin. Perinatol. – 2019. – Vol. 46, № 2. – P. 273–290.
116. Deriugina, A.V. An influence of cytoflavin on oxidative stress and activity of Na/K-ATPase of erythrocytes after brain trauma / A.V. Deriugina, A.V. Shumilova // Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii imeni S.S. Korsakova. – 2017. – Vol. 117, №11. – P. 51-55.
117. Dreffs, A. Retinal pH and Acid Regulation During Metabolic Acidosis / A. Dreffs, D. Henderson, A. Dmitriev [et al.] // Current eye research. – 2018. – Vol. 43, №7. – P. 902-918.
118. Evans, J.R. Cardiovascular support in preterm infants / J.R. Evans, B. Lou Short, K. Van Meurs [et al.] // Clin. Ther. – 2006a. – Vol. 28, № 9. – P. 1366–1384.
119. Evans, N. Assessment and support of the preterm circulation / N. Evans // Early Hum. Dev. – 2006b. – Vol. 82, №12. – P. 803–810.
120. Evans, N. Which inotrope for which baby? / N. Evans // Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition. – 2006c. – Vol. 91. №3. – P. 213–220.
121. Faust, K. Short-term outcome of very-low-birthweight infants with arterial hypotension in the first 24 h of life / K. Faust, C. Hartel, M. Preus [et al.] // Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed. – 2015 – Vol.100. – P.388–92.
122. Filippi, L. Oral propranolol for retinopathy of prematurity: risks, safety concerns, and perspectives / L. Filippi, G. Cavallaro, P. Bagnoli [et al.] // J. Pediatr. – 2013. – Vol. 163, №6. – P. 1570-1577.
123. Filippi, L. Propranolol 0.1% eye micro-drops in newborns with retinopathy of prematurity: A pilot clinical trial / L. Filippi, G. Cavallaro // Pediatric Res. – 2017. – Vol.81. – P. 307–314.

124. Forsythe, S.M. Sodium Bicarbonate for the Treatment of Lactic Acidosis / S.M. Forsythe, G.A. Schmidt // Chest. — 2000. — Vol. 117. — P. 260–267.
125. Fuhrman, B.P. Pediatric critical care. (3rd ed.) / B.P. Fuhrman, J.J. Zimmerman — Philadelphia; Elsevier— 2006. — P. 976.
126. Gullans, S.R. Control of brain volume during hyperosmolar and hypoosmolar conditions / S.R. Gullans, J.G. Verbalis // Annual review of medicine. — 1993. — Vol. 44. — P. 289–301.
127. Handy, J.M. Physiological effects of hyperchloraemia and acidosis / J.M. Handy, N. Soni, // British Journal of Anaesthesia. — 2008. — Vol. 101, №2. — P. 141–150.
128. Holmes, J. Metabolic acidosis induced retinopathy in the neonatal rat / J. Holmes, A. Leske, W. Lanier // Investigative Ophthalmology & Visual Science. — 1999. — Vol. 40, №3. — P. 804.
129. Huysman, M. W. Adrenal function in sick very preterm infants / M. W. Huysman, A.C. Hokken-koelega, M.A. De Ridder [et al.] // Pediatric Research. — 2000. — Vol. 48, №5. — P. 629–633.
130. Joynt, C. Treating hypotension in preterm neonates with vasoactive medications / C. Joynt, P.Y. Cheung // Front. Pediatr. — 2018. — Vol.6. — P. 86.
131. Kaplan, L.J. Clinical review: Acid-base abnormalities in the intensive care unit / L.J. Kaplan, S. Frangos // Critical Care. — 2004. — Vol. 9, № 2. — P. 198
132. Khloponin, P.A. Fluorescence and electron-microscopic analysis of differentiation of the myocytes of the ventricles and atria of the avian heart in ontogenesis / P.A. Khloponin // Arkhiv anatomii, histologii I embriologii — 1976. — Vol.71. — № 12. — P. 49-57.
133. Kusuda, S. Morbidity and Mortality of Infants with Very Low Birth Weight in Japan: Center Variation / S. Kusuda, M. Fujimura, I. Sakuma, // Pediatrics. — 2006. — Vol.118, №4. — P. 1130–1138.

134. Laughon, M. Factors associated with treatment for hypotension in extremely low gestational age newborns during the first postnatal week / M. Laughon, C. Bose, E. Allred, [et al.] // Pediatrics. — 2007 — Vol. 119. — P.273–80
135. Levy, B. Lactate and shock state: the metabolic view / B. Levy // Current opinion in critical care. — 2006. — Vol. 12, № 4. — P. 315–321.
136. Lopatina, E.V. Modulation of the transducer function of Na^+,K^+ -ATPase: new mechanism of heart remodeling / E.V. Lopatina, A.V. Kipenko, N.A. Pasatetskaya [et al.] // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. — 2016. — Vol. 94, № 10. — P. 1110-1116.
137. Ma, H. Neonatal metabolic acidosis in the neonatal intensive care unit: what are the genetic causes? / H. Ma, Z. Tang, F. Xiao, L. Li [et al] // Frontiers in Pediatrics. — 2021. — Vol. 9. — P. 727301.
138. Madias, N.E. Lactic acidosis / N.E. Madias // Kidney Int. — 1986. — Vol. 29. — P. 752–774.
139. Marsh, J.D. Mechanism of diminished contractile response to catecholamines during acidosis / J.D. Marsh, T. I. Margolis, D. Kim // Am. J. Physiol. — 1988. — Vol. 254, №1 — P. H20-H27.
140. Marsiglia, J.C. Relevance of beta receptor blockade to the negative inotropic effect induced by metabolic acidosis / J.C. Marsiglia, H.E. Cingolani, N.C. Gonzalez // Cardiovascular research. — 1973. — Vol. 7, № 3. — P. 336–343.
141. Martins, R.A. Control of cell proliferation by neurotransmitters in the developing vertebrate retina / R.A. Martins, R.A. Pearson // Brain Res. 2008 — Vol.1192. — P.37-60.
142. Martinsen, B.J. Reference guide to the stages of chick heart embryology / B.J. Martinsen // Developmental dynamic. — 2005. —Vol. 233. — P. 1217-1237.

143. Minneman, K.P. Alpha 1-adrenergic receptor subtypes / K.P. Minneman, T.A. Esbenshade // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* — 1994. — Vol.34. — P.117-33.
144. Oh, T.K. Association of Preoperative Serum Chloride Levels With Mortality and Morbidity After Noncardiac Surgery: A Retrospective Cohort Study / T.K. Oh, S.H. Do, Y.T. Jeon [et al.] // *Anesth. Analg.* — 2019. — Vol. 129, № 6. — P. 1494–1501.
145. Orchard, C.H. Effects of changes of pH on the contractile function of cardiac muscle / C.H. Orchard, J.C. Kentish // *American Journal of Physiology-Cell Physiology.* — 1990. — Vol. 258, № 6. — P. C967–C981.
146. Orchard, C.H. Acidosis and arrhythmias in cardiac muscle / C.H. Orchard, H.E. Cingolani // *Cardiovasc Res.* — 1994. — Vol. 28. — P. 1312–1319.
147. Osborn, D. Randomized trial of dobutamine versus dopamine in preterm infants with low systemic blood flow / D. Osborn, N. Evans, M. Kluckow // *The Journal of pediatrics.* — 2002. — Vol. 140, №2. — P. 183–191.
148. Otter, D. Simultaneous monitoring of vascular contractility, intracellular pH and intracellular calcium in isolated rat mesenteric arteries; effects of weak bases / D. Otter, C. Austin // *Exp Physiol.* — 2000. — Vol. 85, № 3. — P. 349–351.
149. Pennisi, D.J. Epicardium is required for the full rate of myocyte proliferation and levels of expression of myocyte mitogenic factors FGF2 and its receptor, FGFR-1, but not for transmural myocardial patterning in the embryonic chick heart / D.J. Pennisi, V.L.T. Ballard, T. Mikawa // *Developmental Dynamic.* — 2003. — Vol. 228. — P. 161–172.
150. Rios, D.R. Trends in pharmacotherapy for neonatal hypotension / D.R. Rios, B.S. Moffett, J.R. Kaiser // *J Pediatr.* — 2014. — Vol.165. P. 697–701.

151. Rizk, M.Y. Norepinephrine infusion improves haemodynamics in the preterm infants during septic shock / M.Y. Rizk, A. Lapointe, F. Lefebvre [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2018. – Vol. 107, № 3. – P. 408–413.
152. Ruan, Y. The Role of Adrenoceptors in the Retina / Y. Ruan, T. Böhmer, S. Jiang, A. Gericke // *Cells.* – 2020. – Vol. 9, № 12. – P. 2594.
153. Ruffolo, R.R. Jr. Selective α 2-adrenoceptor agonist activity of the novel inotropic agent, ASL-7022: Comparison with dobutamine / R.R. Jr. Ruffolo, E.L. Yaden // *Eur. J. Pharmacol.* – 1983. – Vol 93. – P. 117-120.
154. Rumyantsev, P.P. Interrelations of the proliferation and differentiation processes during cardiac myogenesis and regeneration / P. P. Rumyantsev // International review of cytology. – Academic Press, 1977. – Vol. 51. – P. 187-273.
155. Seri, I. Management of hypotension and low systemic blood flow in the very low birth weight neonate during the first postnatal week / I. Seri // *J. Perinatol.* – 2006a. – Vol. 26, № 1. – P. 8–13
156. Seri, I. Systemic and pulmonary effects of vasopressors and inotropes in the neonate / I. Seri // *Neonatology.* – 2006b. – Vol. 89. №4. – P. 340–342.
157. Shumilova, A.V. Cytoflavin action on electro-kinetic and aggregation indices of erythrocytes in the post-traumatic period of cerebrocranial injury in experiment / A.V. Shumilova, A.V. Deryugina, V.O. Nikol'skii, G.A. Boyarinov // *Journal of Experimental and Clinical Pharmacology.* – 2018a. – Vol. 81, №3. – P. 20-23.
158. Shumilova, A.V. The effect of cytoflavin on hemostasis during experimental cerebrocranial injury / A.V. Shumilova, A.V. Deryugina, V.O. Nikol'skii [et al.] // *Journal of Experimental and Clinical Pharmacology.* – 2018b. – Vol 81, №12. – P. 15 – 19.
159. Singh, J. Resuscitation in the «gray zone» of viability: determining physician preferences and predicting infant outcomes / J. Singh, J. Fanaroff, B. Andrews [et al.] // *Pediatrics.* – 2007. – Vol. 120, N 3. – P. 519–526.

160. Skarphedinsdottir, S.B. Mechanisms of Ion Transport Across the Mouse Retinal Pigment Epithelium Measured In Vitro / S.B. Skarphedinsdottir, T. Eysteinsson, S.S. Árnason // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2020. – Vol. 61, № 6. – P. 31.
161. Stranak, Z. International survey on diagnosis and management of hypotension in extremely preterm babies / Z. Stranak, J. Semberova, K. Barrington [et al.] // Eur J Pediatr. – 2014 – Vol. 173. – P. 793–8.
162. Subhedar, N.V. Dopamine versus dobutamine for hypotensive preterm infants / N.V. Subhedar, N.J. Shaw // Cochrane Database Syst Rev. – 2003. – Vol. 3. – CD001242.
163. Subhedar, N.V. Corticosteroids for treating hypotension in preterm infants / N.V. Subhedar, K. Duffy, H. Ibrahim // Cochrane Database Syst. Rev. – 2007. – Vol. 1. – CD003662.
164. Tilan, J. Sympathetic Neurotransmitters and Tumor Angiogenesis-Link between Stress and Cancer Progression / J. Tilan, J. Kitlinska // J Oncol. – 2010. – Vol. 2010. – P.539-706.
165. VIDAL (Справочник лекарственных средств) [Электронный ресурс]. URL: <http://www.vidal.ru>.
166. Ward, R.M. Cardiovascular drugs for the newborn / R.M. Ward, R.A. Lugo // Clin. Perinatol. – 2005. – Vol. 32, № 4. – P. 979–997.
167. Wu, T.W. Recognition and management of neonatal hemodynamic compromise / T.W. Wu, S. Noori // Pediatr Neonatol. – 2021. – Vol.62, №1. – P.S22–9.