

На правах рукописи

ВОЛЬФ НАТАЛЬЯ ГЕННАДЬЕВНА

**КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И НЕКОТОРЫЕ
МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ С
ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА**

14.01.08 - педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Красноярск, 2019

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России на кафедре педиатрии института последипломного образования и кафедре биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **ЕМЕЛЬЯНЧИК Елена Юрьевна**

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор **САЛМИНА Алла Борисовна**

Официальные оппоненты:

- Брегель Людмила Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» - филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, заведующий кафедрой педиатрии
- Терещенко Сергей Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», клиническое отделение соматического и психического здоровья детей, руководитель отделения

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

Защита состоится «25» июня 2019 г. в 11⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 208.037.01, созданного на базе ФГБОУ ВО «Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России по адресу: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Красноярский государственный университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, <http://www.krasgmu.ru>

Автореферат разослан «____» _____ 2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 208.037.01,
доктор медицинских наук, доцент

Штарик Светлана Юрьевна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. ЛАГ, ассоциированная с ВПС – прогрессирующее заболевание сосудов МКК с ремоделированием сосудистой стенки, развитием правожелудочковой недостаточности, которые снижают качество и длительность жизни детей. У больных с септальными дефектами отмечается длительная субкомпенсация, что затрудняет диагностику ЛАГ и задерживает начало лечения [Л. И. Агапитов, 2014, Горчакова А.И. с соавт., 2017, X. K. Shang, 2016]. Максимальная выраженность клиники и скорость прогрессирования ЛАГ отмечены при сочетании артериальной гипоксемии и гиперволемии МКК – то есть, у детей со сложными ВПС. Алгоритм наблюдения больных (Клинические рекомендации, 2017) предполагает проведение ангиографического контроля каждые 6 мес., которое сопряжено с риском осложнений [R.Mehta, K.J.Lee, 2008, M.L.O'Byrne, A.C.Glatz, 2015]. Поэтому мы решили исследовать маркеры эндотелиальной дисфункции как возможные ранние диагностические критерии развития и прогрессирования ЛАГ-ВПС для оптимизации наблюдения больных. Исследования Smadja D.M. (2010), Amabile N. (2013) показали, что основой морфологических изменений сосудов при ВПС является ЭД. Это подтверждает связь между степенью ЛАГ и концентрацией ЭТ-1 в плазме. Пусковым фактором развития ЭД является гипоксия, индуцирующая апоптоз клеток периферической крови, образование мембранных микрочастиц с прокоагулянтным и провоспалительным влиянием на эндотелий, нарушением его функционального состояния [Инжутова А.И. с соавт., 2012]. Возможность регрессии ЛАГ коррелирует с минимальной выраженностью пролиферации клеток внутреннего слоя сосудов и числом циркулирующих эндотелиоцитов [Giannakoulas G. et al., 2014]. Это определяет интерес к изучению прогрессирования заболевания с позиций ЭД.

Степень разработанности проблемы. Исследования ЛАГ у детей с ВПС установили необходимость мониторинга клинического состояния, контроля характеристик МКК по данным ангиографии (Бокерия Л., Горбачевский С.В.,

Шмальц А.А., Galiè N., Manes A., Humbert M., Beghetti M., D. D. Ivy). В ряде наблюдений проводилось исследование роли эндотелиальной дисфункции, индуцированной гипоксией у больных с ВПС (Baghdady Y., B. Jia, M. M. Oguz). Однако не изученными остаются диагностическое значение функциональных и биохимических маркеров с позиций наблюдения пациентов и выявления ранних признаков ухудшения для расширения терапии.

Цель исследования: оптимизировать алгоритм наблюдения детей с легочной артериальной гипертензией, ассоциированной с ВПС, на основании исследования особенностей и динамики клинико-функциональных параметров, маркеров дисфункции и репарации эндотелия, а также комплексного лечения пациентов с использованием неселективного антагониста рецепторов к эндотелину-1.

Задачи исследования:

1. Установить особенности клинических проявлений, состояния правых отделов сердца и малого круга кровообращения у детей с умеренной (IIФК) и тяжелой (III-IVФК) легочной артериальной гипертензией, ассоциированной с ВПС.
2. Изучить характер поражения сосудов легочного русла по степени активности блеббинга лимфоцитов, уровням sPESAM-1, СЭФР, ИЛ-1 β в периферической крови детей с различной выраженностью вторичной легочной артериальной гипертензии.
3. Оценить результаты лечения детей с ЛАГ антагонистом рецепторов к эндотелину-1 по клинико-функциональным и лабораторным показателям в ходе многолетнего наблюдения больных.
4. Оптимизировать алгоритм наблюдения детей с ЛАГ-ВПС, направленный на своевременное выявление симптомов прогрессирования для обоснования коррекции терапии и улучшения прогноза больных.

Научная новизна. Впервые у детей с вторичной ЛАГ, ассоциированной с ВПС комплексный анализ клиники, гемодинамики малого круга

кровообращения и маркеров эндотелиальной дисфункции установил ранние объективные симптомы болезни: у больных с ПФК – нарушение толерантности к физической нагрузке по результатам теста 6-минутной ходьбы с появлением боли в грудной клетке на фоне нагрузки у 29,3% и одышки по шкале Борга до 11 баллов с замедлением восстановления после нагрузки, а также максимальную выраженность блеббинга лимфоцитов периферической крови, концентраций ИЛ-1, СЭФР, sPECAM-1.

Определены информативные параметры для выявления ранних проявлений дисфункции правого желудочка – его объем, размер фиброзного кольца трикуспидального клапана, показатели сократимости – фракционное изменение площади ПЖ, объем правого предсердия и амплитуда экскурсии фиброзного кольца ТК (TAPSE), а также параметры прогрессирования структурно-функциональных изменений – гипертрофия миокарда ПЖ с нарушением его систолической функции, индекс эксцентричности левого желудочка, и в меньшей степени – нарушение диастолического расслабления миокарда (E/A).

Впервые у детей с ЛАГ-ВПС показана диагностическая роль блеббинга лимфоцитов периферической крови – его значение в определении поражения сосудов малого круга до развития клинических симптомов прогрессирования процесса. Установлено, что комбинированное влияние гиперволемии и артериальной гипоксемии оказывает наиболее агрессивное влияние на сосуды малого круга, а патогенетической основой данного процесса является дисфункция эндотелия, которую маркируют рост уровня растворимых молекул адгезии тромбоцитов к эндотелию, показателей свертывания, компенсаторное увеличение экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста.

Уникальность данной работы заключается в том, что мы проанализировали естественное течение ЛАГ, ассоциированной с ВПС, в группе детей, которая сложилась в силу не зависящих от нас обстоятельств. Впервые в ходе 4х-летнего наблюдения у больных с ПФК ЛАГ были

определены патогенетические (по динамике ряда параметров функционального состояния эндотелия), клинические и гемодинамические признаки прогрессирования заболевания в отсутствие ЛАГ-специфической терапии.

Впервые проведен комплексный мониторинг клинико-функциональных симптомов и характеристик эндотелиальной дисфункции в ходе многолетнего наблюдения детей с ЛАГ-ВПС, который показал позитивное влияние специфической терапии не только на клинический статус больных, но и на улучшение функционального состояния эндотелия (на основании оценки новых биохимических маркеров). Это подтвердило необходимость раннего назначения терапии, а также контроля изученных маркеров для доклинического выявления признаков прогрессирования заболевания и своевременной коррекции лечения. Данный подход отражен в предложении по оптимизации алгоритма наблюдения детей с ЛАГ-ВПС.

Практическая значимость. Исследование показало, что амбулаторное наблюдение детей с ЛАГ-ВПС ПФК должно включать мониторинг толерантности к физической нагрузке по результатам теста 6-минутной ходьбы с оценкой одышки по шкале Борга и периода восстановления; у больных с ЛАГ-ВПС II ФК – амбулаторно, а у детей с IIIа-IIIб-IVФК – в условиях специализированного стационара. Необходимо наряду с определением клинической динамики проведение оценки эхокардиографических параметров состояния правых отделов сердца и МКК в комплексе с характеристиками функционального состояния эндотелия с интервалом не реже 6 месяцев для своевременного выявления признаков прогрессирования заболевания и коррекции лечения. Установлено, что использование ЛАГ-специфической терапии с применением антагониста рецепторов к эндотелину-1 целесообразно для всех пациентов с ЛАГ, так как у детей с IIIб-IV ФК она тормозит прогрессирование заболевания, предотвращает его декомпенсацию и улучшает клинический статус детей в ближайшие 4,5 года. ЛАГ-специфическая терапия у детей с IIIаФК при наличии клинико-функциональных (результат Т6МХ,

увеличение ПЖ, снижение ФИП ПЖ) и биохимических признаков прогрессирования заболевания (выраженность блеббинга лимфоцитов периферической крови, увеличение sPESAM-1, ИЛ-1 и СЭФР) обеспечивает стабилизацию состояния, и в ряде случаев – достижение обратного развития клинико-функциональных симптомов.

Внедрение в практику. Методические рекомендации по наблюдению детей с ЛАГ-ВПС, «Регистр Красноярского края больных с ЛАГ, ассоциированной с ВПС» внедрены в работу детских кардиологов КГБУЗ ККК ЦОМД, поликлиник г. Красноярска, г. Абакана. Внедрены методические рекомендации для врачей по работе с родителями. Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедре педиатрии ИПО КрасГМУ.

Положения, выносимые на защиту

1. Начальные симптомы легочной артериальной гипертензии (ПФК) у детей с ВПС включают нарушение толерантности к физической нагрузке с появлением одышки и боли в грудной клетке при нагрузках у трети больных. Прогрессирование ЛАГ-ВПС максимально выражено при комбинированном влиянии гиперволемии малого круга и артериальной гипоксемии. Наиболее информативные маркеры прогрессирования ЛАГ при ВПС включают: появление и нарастание систолической дисфункции правого желудочка, увеличение объема правого предсердия, изменение амплитуды экскурсии фиброзного кольца ТК (TAPSE), ремоделирование правого желудочка по типу дилатации и гипертрофии, индекс эксцентричности левого желудочка.

2. Активация блеббинга лимфоцитов периферической крови опережает очевидные клинические проявления при умеренной ЛАГ-ВПС; комбинированное влияние гиперволемии малого круга и артериальной гипоксемии определяет грубые нарушения функционального состояния эндотелиоцитов, сопряженные с развитием воспалительного ответа, увеличением молекул адгезии тромбоцитов к эндотелию и предикторов

тромбообразования, с компенсаторным увеличением уровня сосудистого эндотелиального фактора роста.

3. Применение антагониста рецепторов эндотелина-1 в комплексной терапии наиболее тяжелой категории пациентов с ЛАГ-ВПС обеспечивает улучшение состояния больных и профилактику декомпенсации заболевания благодаря оптимизации функционального состояния эндотелия и гемодинамики малого круга кровообращения. Независимо от функционального класса в отсутствие ЛАГ-специфической терапии у больных прогрессирует эндотелиальная дисфункция, ремоделирование сосудов малого круга и правого желудочка с ухудшением функционального класса заболевания.

Степень достоверности результатов и апробация работы

Достоверность результатов исследования, обоснованность выводов и рекомендаций базируется на методическом и методологическом подходах с формулировкой и проверкой рабочей гипотезы, использовании комплекса современных методов исследования, сравнительном анализе показателей и статистической обработке данных. Материалы исследования доложены и обсуждены: на Всероссийском конгрессе «Детская кардиология» (Москва, 2012г.), педиатрическом обществе «Школа детской кардиологии» (г. Красноярск, 2013, 2015гг.), VI Всероссийской школе-семинаре «Амбулаторное наблюдение в детской кардиологии» (Томск, 2013г.), конференции «Практический разбор клинических случаев: диагностика и лечение пациентов детского возраста с ЛАГ» (Москва, 2016г.), IX Всероссийском конгрессе «Детская кардиология», (Москва, 2016г.), региональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы педиатрии» (Красноярск, 2017г.).

Личный вклад автора. Диссертация является самостоятельным трудом, выполненным на кафедре педиатрии ИПО ФГБОУ ВО «КрасГМУ им. В.Ф.Войно-Ясенецкого» МЗ РФ (и.о. ректора – д.м.н., проф. Никулина С.Ю.) в рамках программы НИР (№ 114102840026). Работа одобрена Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого

МЗ РФ (протокол №52/2013, 27.11.13г.). Автором сформирована рабочая гипотеза исследования, проведены анализ литературы, клиническое обследование, динамическое наблюдение больных(ТбМХ, изучение и оценка блеббинга биомембран лимфоцитов периферической крови, sPESAM-1, ИЛ-1β, СЭФР), статистическая обработка, написание диссертации.

Публикации: По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в т.ч. 3 статьи – в научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем диссертации Работа изложена на 154 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, содержит 29 таблиц, 12 рисунков. Библиографический список включает 194 источника - 52 отечественных и 142 зарубежных, 48% - за последние 5 лет.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Характеристика обследованных пациентов. В период 2011-2017гг. проводилось наблюдение 50 детей с ЛАГ II-IV ФК, ассоциированной с ВПС. У детей старше 14 лет и законных представителей детей до 14 лет получено информированное согласие на участие в исследовании. Контрольную группу составили 20 здоровых детей сходных возрастных характеристик.

Критерии включения в исследование: II-IVФК ЛАГ у детей до 18 лет на фоне ВПС с перегрузкой артериального русла МКК (ДМЖП, ДМПП, АВК, ЕЖ, ОАС, ДОМС ПЖ), с артериальной гипоксемией (ТМС, ТАДЛВ, атрезия ТК, аномалия Эбштейна), комбинированных пороков. *Критерии исключения:* пороки с венозной перегрузкой МКК (коарктация аорты, митральный, аортальный стеноз), отказ от участия в исследовании. Несмотря на более частое использование в практике классификации ВОЗ, мы выбрали для определения функционального класса ЛАГ педиатрическую функциональную классификацию [Lammers A.E. et al., 2011, 2016]. Все пациенты были разделены на 3 группы: 1 гр. - ПФК (n=23, м:д=9:14) 13 лет [7,5; 14,5]; 2 гр. -

IIIa ФК (n=13, м:д=9:5) 7,75 лет [7;11,6]; 3 гр. - IIIб-IV ФК (n=14, м:д=4:10), 9,5 лет [6;13]. У детей первых двух групп ЛАГ развивалась на фоне ВПС с обогащением МКК, частично корригированных, либо не корригированных (25 больных) в связи с отказом родителей. ЛАГ развивалась по сценарию синдрома Эйзенменгера. Дети 3-й группы имели сложные пороки с гиперволемией МКК, артериальной гипоксемией, быстрым прогрессированием ЛАГ.

Дизайн исследования. Оценка комплекса показателей проводилась с учетом ФК ЛАГ (рис.1). На 1 этапе показатели больных сравнивались со значениями здоровых (20 детей контрольной группы). На 2 этапе группы переформированы в соответствии с терапией (наличие/отсутствие лечения антагонистом рецепторов к ЭТ-1). Базисная терапия началась в 2011-2012 г с учетом публикаций Агапитова Л.И. (2012), Бокерия Л.А. (2014) (табл. 1).

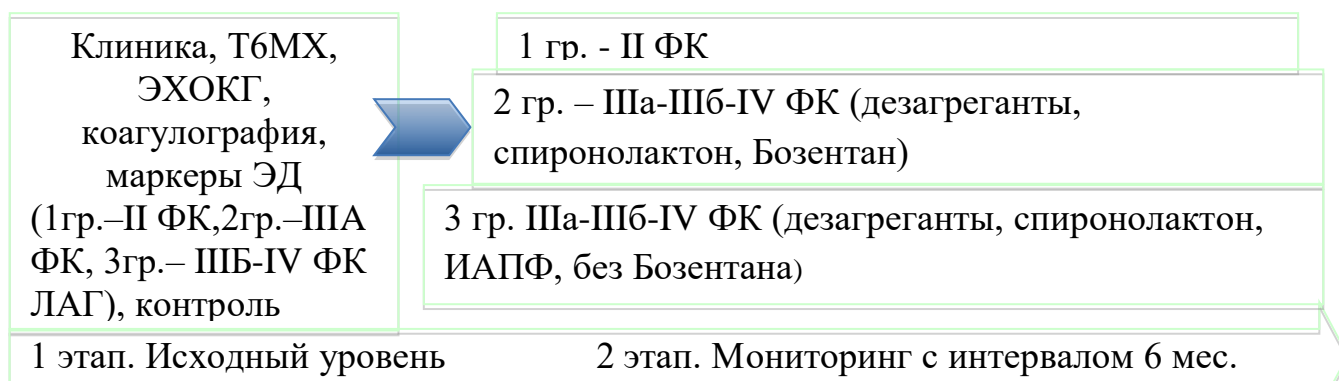


Рисунок 1. Дизайн исследования. Формирование групп.

Таблица 1.

Терапия больных с ЛАГ-ВПС

Препараты, дозы	1 гр. (n=23)	2 гр. (n=14)	3 гр. (n=13)
БКК*	3	-	-
ИФДЭ-5 (силденафил 8 мг/кг/с)	-	4	3
Диуретик (верошпирон 3 мг/кг/с)	-	13	13
Дезагреганты	-	6	9
ИАПФ (каптоприл 0,5-1 мг/кг/с)	8	14	13
Бозентан (2 мг/кг/с)		14	13

*БКК – блокаторы кальциевых каналов (назначались после коррекции ВПС, при положительном тесте вазореактивности [Бокерия Л.А. с соавт. 2014]).
Группа сравнения (3 гр.) – дети с ЛАГ IIIб-IV ФК, не получавшие терапию

антагонистом рецепторов ЭТ-1, сформировалась спонтанно: 3 больных не достигли 2-х лет (разрешения применения Бозентана), 4-ро в момент начала исследования получали силденафил с некоторым эффектом, у 2-х детей выявлено отсутствие приверженности к терапии), 3-е не имели Российского гражданства, что препятствовало назначению льготного лекарственного обеспечения, 1 - отказ родителей на основании религиозных убеждений.

Методы исследования: использовались клинико-anamnestический метод обследования, пульсоксиметрия, оценка толерантности к физической нагрузке у детей старше 4-х лет методом Т6МХ с помощью перцентильных диаграмм для детей с учетом пола и возраста [Ulrich S. et al., 2013]. Трансторакальная эхокардиография с цветным доплеровским картированием проводилась с определением морфо-функциональных параметров правых отделов сердца в соответствии с рекомендациями ESC/ASE и по российским данным [Kassem E. et al. 2013; Воробьев А.С., 2010], с учетом площади тела. Для подтверждения ЛАГ катетеризация сердца проводилась в ФЦССХ г.Красноярска. Оценивались уровни гемоглобина, тромбоцитов, РФМК, парциальное давление кислорода. Изучение ЭД включало регистрацию блеббинга биомембран лимфоцитов периферической крови на микроскопе «Olympus» с фазово-контрастной насадкой при 400-900-кратном увеличении, после предварительной обработки [Шахов В.П. и др., 2004] - проводился подсчет интактных клеток, клеток в состоянии начального блеббинга (везикулы на $\frac{1}{3}$ радиуса клетки), терминального блеббинга (более $\frac{1}{3}$ радиуса клетки); определение уровней растворимых молекул адгезии тромбоцитов к эндотелию (sPESAM-1), ИЛ-1 β , СЭФР методом ИФА по стандартным протоколам.

Статистическая обработка результатов проведена с помощью пакета прикладных программ Statistica 10,0 непараметрическими методами. Значимость различий принималась достоверной при $p < 0,05$. Оценка выживаемости больных и времени развития легочных кризов рассчитана по

таблицам дожития методом Каплана-Мейера, диагностическая значимость по чувствительности, специфичности параметров.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клинико-функциональная характеристика ЛАГ-ВПС у детей (1 этап).

Анализ клиники ЛАГ-ВПС показал, что большинство детей с ПФК воспринимались родителями и участковыми педиатрами как практически здоровые. У 13% выявлена преходящая пастозность голеней, 29,2% предъявляли жалобы на боли за грудиной при нагрузке. Результат Т6МХ был меньше, чем у здоровых ($p < 0,001$), одышка по шкале Борга достигла 11 б., замедлено восстановление ($p < 0,001$) (табл.2). При ШаФК выявлены ретардация физического развития, низкая толерантность к нагрузке; 61,5% детей не посещали детские учреждения.

Таблица 2.

Клинический статус детей с ЛАГ-ВПС (абс. (%))

Показатели/ группы	1 гр. (II) n=23	2 гр. (IIIa) n=13	3 гр. (IIIб-IV) n=14	Контроль n=20
Рост <5‰ (абс,%)	4 (17,4)	6 (46,1)	10 (71,4)	-
ИМТ <3‰(абс,%)	5 (21,7)	5 (38,46)	8 (57,1)	-
Боли за гр. (абс., %)	7 (29,2)	5 (38,4)	10 (71,4)	-
Дом.обуч.(абс., %)	0	8 (61,5)	14 (100)	-
СДЛА, мм рт.ст.	38 [35;43,4]**	71 [57,5;83,75] ***###	93,5 [58;98,5] ***&&	20 [17,25; 22]
Т6МХ, расстояние (м)	400[365; 436,5]***	320[220;373,5] ***	225 [178;297] ***&&&	510,5 [495;526]
Одышка по шкале Борга (баллы)	11 [11;13]***	17,5 [16,75;18] ***###	18 [17;19]***	7 [6;7]
Время восст. (мин.)	5[5;6]***	10[9,75;11]*** ###	12[10;14]***	4[4;5]
SaO ₂ , %	96 [94,5;98]	90,5 [89;94,25] ***###	86 [74;90] ***&&&	98 [97;98,25]
Синкопе (абс., %)	-	-	14 (100%)	-
Легочные кризы (%)	-	-	9 (64,3%)	-

** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$, основные группы/контроль. & - сравнение 2/3 группы; # - сравнение 1/2 групп наблюдения.

Дети с IIIб-IVФК ЛАГ в 57% случаев имели дефицит массы тела и задержку роста, расстояние Т6МХ в 2,5 раза меньше, чем в гр. контроля. У

больных с артериальной гипоксемией в 64,3% отмечались частые легочные кризы (десатурация, потеря сознания, боль в грудной клетке). По данным ангиографии у детей 2-й и 3-й гр. СДЛА 82,5 мм рт.ст. и 100 мм рт.ст., индекс Вуда – 16 ед./м² и 20,25 ед./м², что превышает диагностический критерий в 5,3 и 6,6 раз соответственно (больные не операбельны). Значение артериальной гипоксемии в развитии ЛАГ-ВПС подчеркивается достоверной связью между парциальным давлением кислорода и СДЛА (R=-0,69, p<0,001). Ультразвуковые параметры сердца показали доклинические изменения при ЛАГ ПФК - расширение полости ПЖ (p<0,05), затем увеличение диаметра ФК ТК, ствола ЛА, и затем – полости ПП (табл. 3), отражая формирование правожелудочковой недостаточности.

Таблица 3.

Состояние малого круга и правых отделов сердца у детей с ЛАГ-ВПС

Группы/по к-ли	ПЖ М-режим, мм/м ²	Д ЛА мм/м ²	ПП мл/м ²	TAPSE мм	ФИП ПЖ %	Е/А	ИЭ ЛЖ
1 гр. n-23	12,8 [10,6; 17,78]	15,3 [12,3; 20,3]	19,63 [16,15; 23,08]	20 [18; 21,5]	60 [56,9; 62,6]	1,32 [1,2; 1,64]	1,06 [1,0;1,1]
2 гр. n-13	20,95 [17,92; 26,22]	23,5 [18,74; 25,76]	23,65 [19,49; 32,14]	16 [12,75; 18]	53,5 [49,8; 55,87]	1,27 [1,08;1, 52]	1,43 [1,4;1,5]
3 гр. n-14	19,04 [16,7; 30,9]	26,73 [21,79; 37,7]	25,64 [21,78; 35,7]	14,5 [12,25; 17,6]	54,68 [45;57]	1,9 [1,75; 2,1]	1,45 [1,3;1,5]
Конт- роль n-20	9,51 [8,45; 11,85]	16,35 [14,55; 19,4]	18,15 [13,4; 20,2]	21 [16,5; 24]	63,3 [60;65]	1,78 [1,67; 1,84]	1,0 [1,0;1,0]
p1-4	0,004	0,39	0,612	0,6	0,06	0,03	0,05
p1-2	<0,001	<0,001	<0,001	0,02	0,01	<0,001	0,005
p2-3	0,05	0,01	0,13	0,06	0,4	<0,001	0,4
p2-4	<0,001	<0,001	0,005	<0,001	<0,001	0,008	<0,001
p3-4	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,02	<0,001

Во 2 и 3 гр. выявлена гипертрофия стенок камеры ПЖ со снижением сократимости миокарда (ФИП ПЖ и TAPSE) и дилатацией полости,

расширение ПП, характерное для венозного застоя. Диастолическая дисфункция оценивалась после нормализации ЧСС: менее 90 уд/мин., Е/А отразил увеличение жесткости стенок ПЖ по мере прогрессирования болезни, увеличение вклада предсердия в диастолическое наполнение при умеренной ЛАГ и псевдонормальный или рестриктивный тип диастолы у части детей 3 гр. Увеличение правых отделов сопровождалось нарушением геометрии ЛЖ и увеличением ИЭ, что еще больше ухудшало гемодинамику большого круга.

Роль маркеров дисфункции эндотелия в развитии ЛАГ-ВПС (1 этап)

Ремоделирование сосудистой стенки начинается с дисфункции эндотелия - дисбаланса вазодилатирующих и вазоконстрикторных факторов, увеличения адгезии тромбоцитов к эндотелию, активации лимфоцитов с увеличением продукции провоспалительных цитокинов и развитием субэндотелиально асептического воспаления [El-Melegy et al., 2010]. Начальный этап развития ЭД – апоптоз эндотелиоцитов маркируется выраженностью блеббинга биомембран мононуклеаров (изучению доступны лимфоциты периферической крови, тесно контактирующие с эндотелиоцитами). Анализ маркеров ЭД установил следующее (табл.4). У детей 1 группы отмечено значимое повышение числа лимфоцитов в фазе терминального блеббинга ($p < 0,001$), при тяжелой ЛАГ – его 8-кратное увеличение в сравнении с показателем контроля. У всех больных уровень sPESAM-1 значимо повышен и имеет максимальные значения в 3 группе. Начиная со ПФК отмечается увеличение концентрации РФМК и Д-димеров ($p < 0,01$) (рис.2). Гиперкоагуляция на фоне компенсаторной полицитемии определяет риск развития тромбоза мелких артерий МКК вплоть до облитерации сосудов микроциркуляции и редукции площади газообмена [Tuder RM, 2007]. Установлено увеличение уровней СЭФР, максимальное при артериальной гипоксемии: в 13,5 раз от контроля во 2 гр. и в 11,9 раз – у больных 3 гр. Это отражает компенсаторный неоангиогенез - ключевой фактор процесса ремоделирования. В 3 гр. отмечено снижение уровня СЭФР, возможно, связанное с истощением механизма компенсации.

Чувствительность и специфичность параметров показали возможность их применения в качестве диагностических критериев для выявления прогрессирования ЛАГ у детей. Изучение роли воспаления выявило увеличение уровня ИЛ-1 β во всех группах с ростом его при прогрессировании ЛАГ.

Таблица 4.

Диагностическое значение показателей ЭД у больных ЛАГ-ВПС

Показатели	II ФК		IIIа ФК		IIIб-IV ФК		Контроль Me[25;75]
	Me[25;75]	Se, Sp	Me[25;75]	Se, Sp	Me [25;75]	Se, Sp	
Терм.блеб- бинглимфо- цитов (%)	14 [10; 23,5] ***	82,6 67	44 [42,5;54] ***^^^	78,5 82,6	50[45,25; 58,5]*** &&&	78,5 69,2	8 [7; 12,5]
sPESAM-1	99,8[89,4; 115,9]*	75 84,3	101,1[97,8; 136,6]***^^	84,7 73,9	130,6[121,7; 49]***&&	83 71,4	79,19 [65,1;98,2]
ИЛ-1 β	5,4[1,18; 6,07]*		5,66[4,29; 6,1] *		5,85[3,95; 6,43]*		5,2 [1,1;8,7]
СЭФР	114,4[89, 6;281,2]**	73,3 84,2	757,5[459,2; 990,4]***^^^	73 91	671,4[592,8; 889] ***^^^	77 83	56,38 [37,8; 96]

* - сравнение показателей исследуемых и контрольной групп; ^ - сравнение показателей 1 и 2 групп, & - 2 и 3 групп. */^/& - p<0,05; **/^/&& - p<0,01; ***/^&&/&&- p<0,001.

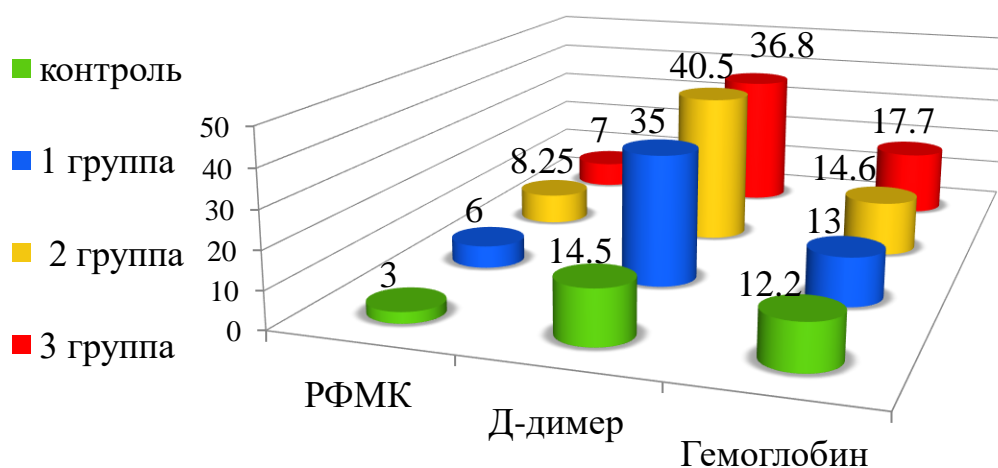


Рисунок 2. Предикторы тромбообразования у детей с ЛАГ-ВПС (абс.)
Анализ корреляционных отношений подтвердил роль гипоксии как индуктора повреждения и гибели клеток благодаря отрицательной средней силы связи между сатурацией O₂ венозной крови и выраженностью терминального

блеббинга лимфоцитов ($r=0,638, p<0,001$), СЭФР ($r=0,719, p<0,001$), sPECAM-1 ($r=0,531, p<0,001$), СДЛА ($r=0,71, p<0,001$) и положительной с результатом Т6МХ ($r=0,648, p<0,001$) и нарушением сократимости ПЖ по уровню TAPSE ($r=0,465, p<0,001$). Определяющую роль ЭД в прогрессировании поражения сосудов МКК и ПЖ показывает средней силы положительная связь между уровнем ЛСС и выраженностью блеббинга лимфоцитов ($r=0,56, p<0,05$).

Наблюдение детей на фоне ЛАГ-специфической терапии (2 этап)

Представлены результаты 4-хлетнего наблюдения больных: 1 гр. – дети с ПФК, вне ЛАГ-специфической терапии, 2 гр. – больные с Ша-IIIб-IVФК, получающие Бозентан, 3 гр. – пациенты, без терапии Бозентаном (рис. 3).

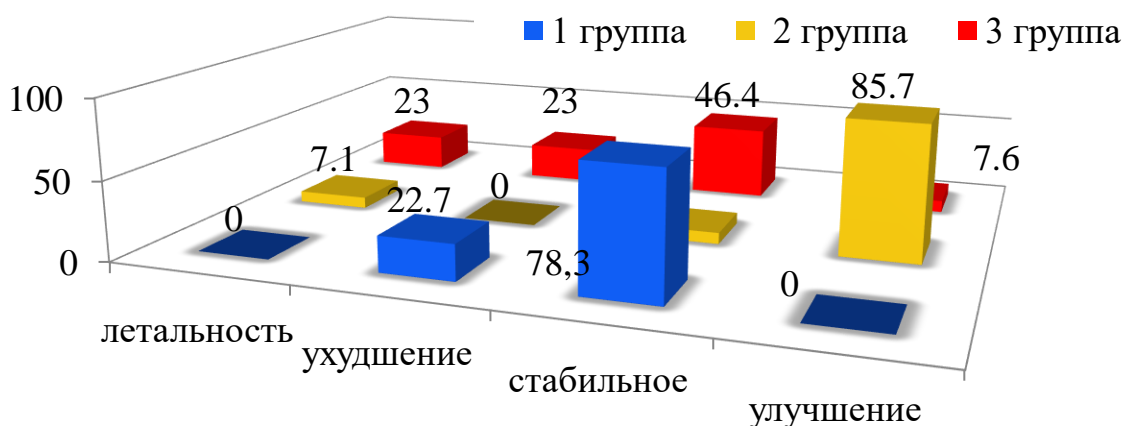


Рисунок 3. Течение ЛАГ-ВПС на фоне ЛАГ-специфической терапии (%).

Установлена однонаправленная клиническая динамика у детей, не получавших ЛАГ-специфической терапии (1 и 3 гр.): у большинства детей состояние оставалось без изменений, у 1/5 детей обеих групп прогрессирование. При тяжелой ЛАГ-ВПС отмечена тенденция к снижению выживаемости, хотя сравнительный анализ дожития не выявил значимых отличий: индекс Гехана-Уилкоксона составил 2.389 ($p=0,122$). Эти данные не противоречат литературным, причем в отличие от других работ, рассматривают только больных с ЛАГ-ВПС (Channick R.N. et al., 2001, Galta N. et al., 2008; Denton C.P. et al., 2006).

Во 2 группе на фоне терапии антагонистом рецепторов ЭТ-1 большинство

больных улучшили свой клинический статус на один ФК, 1 ребенок (IV ФК) умер на 50-м мес., у 1 не было улучшения. Критерием позитивной динамики было удлинение времени до развития ЛК, характеризующих декомпенсацию ЛАГ: индекс Гехана-Уилкоксона составил 8,906, $p=0,003$ (рис. 4). У детей, получавших лечение с применением Бозентана, первый криз произошел через 6 мес., а число эпизодов ЛК было вдвое меньшим, чем в группе сравнения.

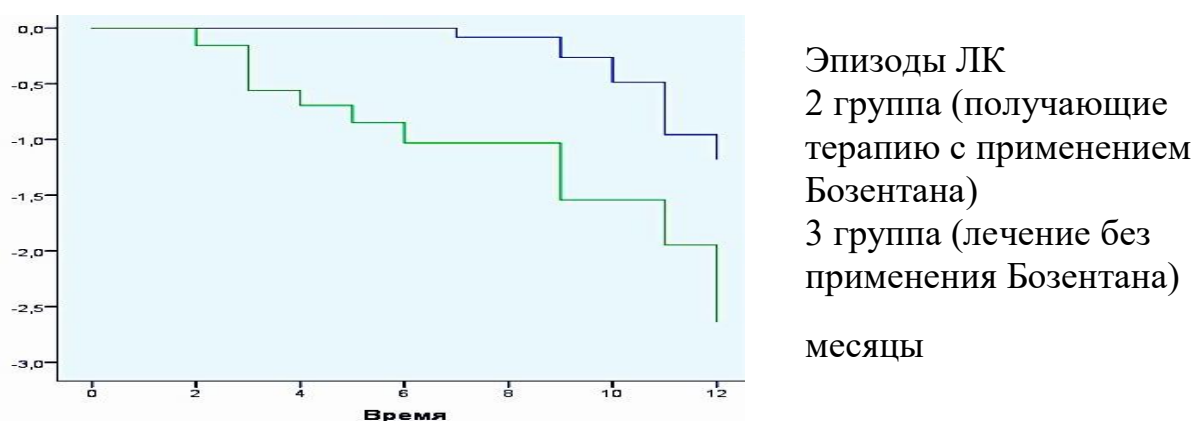


Рисунок 4. Период до развития ЛК у детей с ЛАГ специфической терапией.

Наши данные показали безуспешность минимальной терапии у детей с ЛАГ-ВПС. В данный момент подход к терапии детей начал меняться в соответствии с рекомендациями экспертов (Школьников М.А. с соавт., 2017) и предполагает ее расширение в соответствие с ФК. Анализ новых патогенетических маркеров ЛАГ позволяет научно обосновать перспективность данного подхода терапии детей с ЛАГ-ВПС. К концу периода наблюдения отмечено статистически значимое снижение степени выраженности артериальной гипоксемии ($p < 0,01$) (табл. 5). Через 12 мес. лечения у детей 2 гр. улучшилась переносимость физических нагрузок ($p < 0,05$), дистанция Т6МХ увеличилась в 1,6 раза ($p < 0,001$). Документировано улучшение показателей физического развития по среднегрупповым параметрам. В 1 группе к концу наблюдения выявлено удлинение восстановления после Т6МХ ($p < 0,05$), появились признаки десатурации на фоне нагрузки ($p < 0,05$), и у детей 3 группы переносимость нагрузки ухудшилась ($p < 0,001$), сопровождаясь снижением сатурации O_2 ($p < 0,001$) в сравнении с исходным.

Таблица 5.

Клиническая динамика ЛАГ-ВПС (Ме[25;75])

Группы	1-я гр., n=23			2-я группа, n=14			3-я группа, n=13		
	Исх.	12 мес.	54 мес.	Исх.	12 мес.	54 мес.	Исх.	12 мес.	54 мес.
SpO ₂ , %	96[94; 98]	94[9 2; 96]	93[90; 95]*	87[84 ;90]	93[88 ;97]	96[77; 98]**	91[8 7; 93]	80[7 6; 88]	75[72; 86]**
T6MX, м	400 [350; 442]	390 [315; 407]	341,5 [310; 403]	250 [210; 320]	320 [311; 388]*	400 [318; 420]**	225 [120; 325]	270 [143; 325]	205 [210; 318]
Дл. тела(% откл. от 50% _о по возр.)	-2,27 [-7,16; 1,62]	-4,6 [-9,6; 1,17]	-1,8 [-6; 0,84]	-10,8 [-12,7; -3,8]	-7,3 [-9,8; -2,2]	-4,2 [-7,7; -10,8]	-9,81 [-11,9; -5,1]	-11,8 [-16,6 ; -7,4]	-12,8 [-16; -6,9]
ИМТ (% откл. от 50% _о по возр.)	-6,8 [-14,3; 1,17]	-6 [-11; 3,3]	-4,8[-15,7; 0,6]	-9,8 [-18,6 ; -6,1]	-8,2 [-13,5 ; -2,5]	-7,3 [-22,1; 1,42]	-0,79 [-10; 11]	0,54 [-3,2; 7,22]	-2,26 [-8,7; 0,51]

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$. Сравнение с исходными данными.

Анализ гемодинамики МКК и ПЖ установил у больных 2гр. восстановление сократительной способности ПЖ до субнормальных значений, оптимизацию диастолического расслабления (рис. 5).

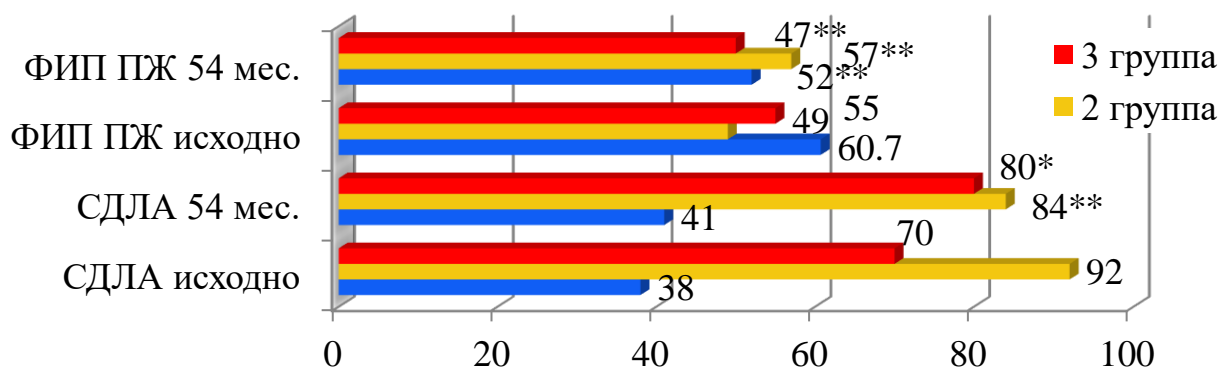


Рисунок 5. Динамика параметров МКК

Через 4.5 года у детей 1 гр. появилось нарушение сократительной функции ПЖ, ухудшение диастолического расслабления, расширение правых камер ($p < 0,05$). У части детей 3гр. появилась диастолическая дисфункция ПЖ по типу псевдонормализации или рестриктивному типу, хотя среднегрупповые показатели отразили только тенденцию к снижению Е/А. Отмечено значимое

увеличение СДЛА и снижение сократимости ПЖ (снижение ФИП $p < 0,01$ и TAPSE с 15,5 мм исходно до 12 мм, $p < 0,001$).

Анализ маркеров ЭД показал, что у детей 2 гр. через 4 года лечения число клеток в состоянии терминального блеббинга уменьшилось в пользу нормальных и клеток с начальным блеббингом ($p < 0,01$) (рис.6).

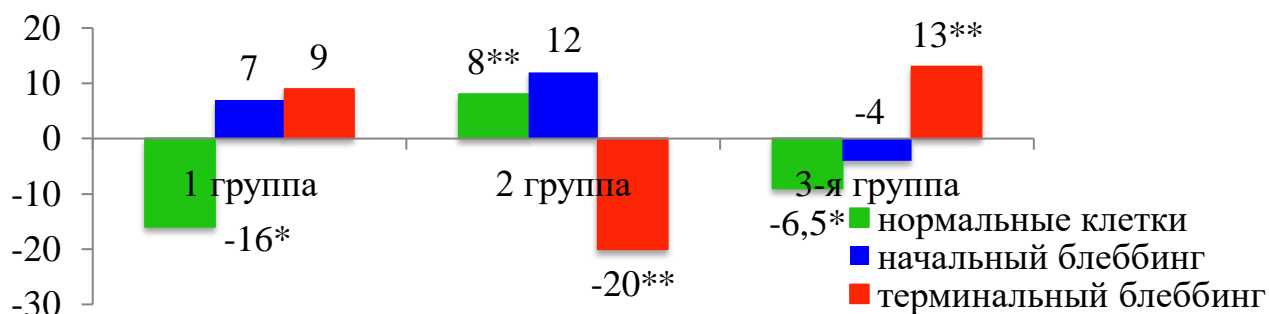


Рисунок 6. Динамика активности блеббинга лимфоцитов периферической крови

Выявлено 10-кратное снижение СЭФР ($p < 0,001$), в 1,8 раза - уровня sPESAM-1 ($p < 0,01$), на 70% от исходного – ИЛ-1 β ($p < 0,001$), снижение РФМК, характеризую оптимизацию состояния эндотелия со снижением риска тромбоза и пролиферации эндотелия (рис. 7).

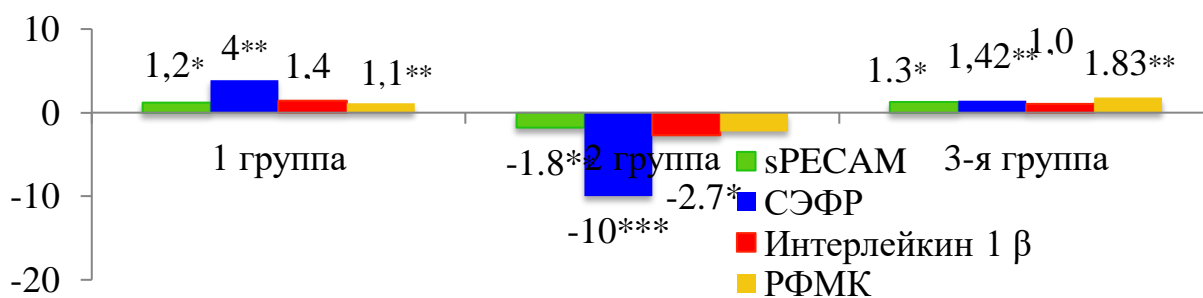


Рисунок 7. Динамика маркеров функционального состояния эндотелия и системного воспаления при применении антагониста рецепторов к ЭТ-1.

У детей 1 гр., и особенно 3 гр. отмечается негативная динамика – рост числа клеток с признаками начального и терминального блеббинга при снижении числа неизмененных ($p < 0,05$). То есть, независимо от ФК ЛАГ в отсутствие специфической терапии отмечается активация апоптоза и дисфункция эндотелия. При этом рост уровней sPESAM-1 ($p < 0,01$) и СЭФР, тенденция к увеличению ИЛ-1 β , увеличение РФМК характеризовали ремоделирование сосудов МКК, предшествующее развитию декомпенсации в

виде легочного криза. Показатель Спирмена между характеристиками ЭД и легочными кризами подтвердил диагностическое значение терминального блеббинга лимфоцитов ($r=0,71$; $p<0,001$), sPECAM-1 ($r=0,55$; $p=0,002$) и СЭФР ($r=0,73$; $p<0,001$) для выявления вероятности развития легочного криза.

КОНЦЕПЦИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гипоксия и гиперволемиа МКК индуцируют нарушение функций эндотелиоцитов, активацию лимфоцитов с увеличением синтеза ИЛ-1 β , вызывающего воспаление в сосудистой стенке с последующими фиброзными изменениями (Hall S. et al., 2009). Проникновение активированных лимфоцитов субэндотелиально регулирует sPECAM-1, управляющий адгезией клеток и усилением агрегации тромбоцитов (Oguz M.M. et al., 2014). Гипоксия стимулирует блеббинг биомембран лимфоцитов с утратой цитоплазмы и разрушением клеток. Образующиеся частицы повреждают эндотелий при контакте с ним (Егорова А.Б., 2001) (рис.8). Установлена роль иммунного воспаления (ИЛ-1 β) в ремоделировании сосудов, увеличение выраженности блеббинга лимфоцитов по мере прогрессирования артериальной гипоксемии у детей с ЛАГ-ВПС, увеличение концентрации sPECAM-1 и показателей свертывания (РФМК, Д-димеров), отражающее нарушение барьерной функции эндотелия. Рост экспрессии СЭФР – компенсаторная реакция с целью увеличения русла микроциркуляции (Mata-Greenwood E. et al., 2003, Abe K., 2010). Однако, его гиперпродукция способствует образованию плексиформных изменений и облитерации сосудов МКК в результате пролиферации эндотелиоцитов с утратой площади газообмена, и развитию тяжелых форм ЛАГ. Наши данные позволили предложить внести в план диспансерного наблюдения детей с ЛАГ (Школьников М.А. с соавт., 2017), ассоциированной с ВПС, комплекс ультразвуковых показателей и параметров ЭД. Данный подход объясняет необходимость раннего начала терапии, дополняет алгоритм наблюдения, предложенный в клинических рекомендациях по диагностике и лечению ЛАГ (2017), так как позволяет минимизировать использование

инвазивных методов благодаря внедрению высокоинформативных биохимических маркеров прогрессирования заболевания и своевременно провести коррекцию терапии больных.

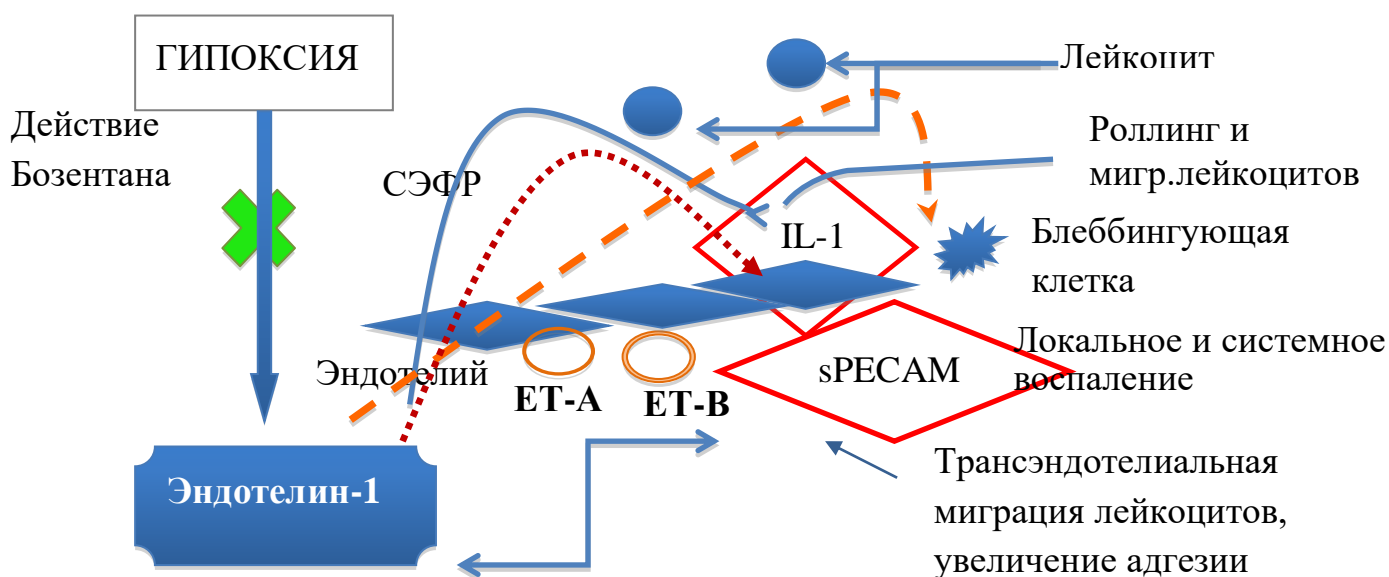


Рисунок 8. Схема патогенетического механизма развития ЭД при ЛАГ-ВПС.

ВЫВОДЫ

1. Выявлены ранние клинические маркеры в группе детей с ЛАГ-ВПС. Начальные признаки ЛАГ у детей с ВПС включают снижение толерантности к физической нагрузке по результатам Т6МХ с развитием одышки до 11 баллов по шкале Борга, боли за грудиной у 29,3% пациентов, увеличение объема ПЖ и снижение сократимости миокарда в виде уменьшения фракционного изменения площади и TAPSE. Комбинированное влияние гиперволемии малого круга и артериальной гипоксемии обеспечивает максимально быстрое прогрессирование ЛАГ-ВПС с формированием декомпенсации: с грубым нарушением физического развития, социальной дезадаптацией, правожелудочковой недостаточности с нарушением сократимости и диастолического расслабления миокарда ПЖ.

2. Ранними доклиническими маркерами ЛАГ-ВПС у больных II ФК являются: активация блеббинга лимфоцитов периферической крови, повышение уровня sPESCAM-1 и СЭФР, опережающие явные клинические симптомы ЛАГ. Для больных IIIа ФК ЛАГ характерна выраженная активация блеббинга

биомембран лимфоцитов при участии системного воспаления, максимальный уровень СЭФР с возможной обратимостью симптомов. У больных с ШБ-IV ФК максимально выражены активность блеббинга лимфоцитов периферической крови и гиперкоагуляция, повышен уровень молекул адгезии тромбоцитов к эндотелию, отмечено снижение СЭФР, вероятно, обусловленное истощением компенсаторного ресурса ангиогенеза и связанное с формированием апоптоз-резистентности эндотелиоцитов и необратимостью изменений сосудистой стенки.

3. Отсутствие ЛАГ-специфической терапии способствует прогрессированию заболевания: при ПФК ухудшается функциональный класс у 22,7% больных; у детей с ШаФК лечение с применением антагониста рецепторов к Эт-1 обеспечивает клинико-гемодинамическое улучшение, у части – обратное развитие ЛАГ с возможностью радикальной коррекции порока; при ШБ-IV ФК на фоне данной терапии снижается риск декомпенсации в виде легочных кризов, улучшается физическое развитие и переносимость физических нагрузок, функциональное состояние эндотелия, гемодинамики малого круга кровообращения и состояния правых отделов сердца.

4. Алгоритм наблюдения детей с ЛАГ-ВПС, включающий не только общепринятый мониторинг клинических, гемодинамических параметров, но и ряд маркеров дисфункции и репарации эндотелия, показатель системного воспаления, обеспечивает выявление доклинических симптомов прогрессирования заболевания, необходимое для обоснования коррекции терапии с целью позитивной модификации течения болезни, и в ряде случаев минимизирует инвазивные исследования.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для своевременной диагностики ранних симптомов ЛАГ у детей с ВПС рекомендовано проведение Т6МХ с учетом жалоб на боли в грудной клетке, выраженности одышки по шкале Борга, периода восстановления на приеме детского кардиолога; а также оценки объема ПЖ и ПП, фракционного

изменения его площади и степени экскурсии фиброзного кольца ТК.

2. Для выявления прогрессирования ЛАГ-ВПС рекомендована оценка правых отделов сердца (ФИП ПЖ, TAPSE), индекса эксцентричности левого желудочка и диастолической функции правого желудочка (E/A).

3. Рекомендовано оптимизировать алгоритм диспансерного наблюдения детей с ЛАГ-ВПС, включив в него контроль комплекса ультразвуковых характеристик МКК и параметров эндотелиальной дисфункции: блеббинга биомембран лимфоцитов периферической крови, уровней ИЛ-1, sPESAM-1, СЭФР с интервалом не менее 6 месяцев, что позволит установить доклиническое прогрессирование минимально инвазивным методом и провести своевременную коррекцию специфической терапии.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Емельянчик, Е. Ю. Клинико-функциональная характеристика и некоторые маркеры эндотелиальной дисфункции у детей с вторичной легочной артериальной гипертензией / Е. Ю. Емельянчик, А. Б. Салмина, Н. Г. Вольф // Матер. II междунаро. научно-практич. конф. «Актуальные направления фундаментальных и прикладных исследований». М., Spc. Academic. – 2013. – С.50-54.
2. Состояние правых отделов сердца у детей с гиперволемией малого круга кровообращения / Е. Ю. Емельянчик, А. Б. Салмина, Н. Г. Вольф, Е. П. Кириллова, В. А. Сакович, М. П. Леонтьева, Т. В. Качанова, Д. П. Столяров, Е. В. Сахнов, Е. В. Басалова, Е. Н. Кузминых, Д. Б. Дробот, О. В. Аверьянова, О. А. Доможакова // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.** – 2015. – №3. – С.65-75
3. Эффективность базисной терапии у детей с легочной артериальной гипертензией на фоне врожденных пороков сердца: роль маркеров эндотелиальной дисфункции и системного воспаления / Е. Ю. Емельянчик, Н. Г. Вольф, Е. П. Кириллова, Л. Н. Анциферова, О. А. Доможакова, А. Б. Салмина // **Кардиоваскулярная терапия и профилактика.** – 2016. – №15(5). – С.50-58.
4. Функциональное состояние эндотелия у больных легочной артериальной гипертензией, ассоциированной с врожденными пороками сердца / Е.Ю.Емельянчик, Н.Г. Вольф, О.А.Ваземиллер, А.Б.Салмина//**Кардиология.** –2017. – №57(8). – С.40-46.
5. ЭХО-кардиографические показатели правых отделов сердца при легочной артериальной гипертензии на фоне врожденных пороков сердца у детей / Е. Ю. Емельянчик, Н. Г. Вольф, Е. П. Кириллова, М. П. Леонтьева, Т. В. Качанова // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.** – 2015. – №4. – С.167.
6. Емельянчик, Е. Ю. Клинико-функциональная характеристика вторичной легочной артериальной гипертензии на фоне врожденных пороков сердца у детей с синдромом Дауна / Е. Ю. Емельянчик, А. Б. Салмина, Н. Г. Вольф // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.** –2015. – №4. –С.167-168.

7. Емельянчик, Е. Ю. Как улучшить качество жизни ребенка с легочной артериальной гипертензией / Е. Ю. Емельянчик, Н. Г. Вольф, Е. П. Кириллова // Учебно-методическое пособие для педиатров и детских кардиологов для обучающей работы с родителями. - Красноярск: - 2015. – 57с.
8. Вольф, Н. Г. Клинический случай пациента с высокой легочной артериальной гипертензией на фоне некорригированного врожденного порока сердца. Результаты четырехлетней терапии препаратом Бозентан / Н. Г. Вольф, Е. Ю. Емельянчик, Л. Н. Анциферова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. –2016.–№ 3. – С.205.
9. Регистр легочной артериальной гипертензии красноярского края – итоги пятилетней работы/Н.Г.Вольф,Е.Ю. Емельянчик, Л.Н.Анциферова, И.Ю.Науменко, Е. Н.Кузминых// Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2016. – № 3. – С.204.
10. Диспансерное наблюдение детей с легочной артериальной гипертензией, ассоциированной с врожденными пороками сердца (мониторинг состояния малого круга кровообращения)/Н. Г. Вольф, Л. Н. Анциферова, А. Б. Салмина, О. А. Ярусова, Е. Ю. Емельянчик // Методические рекомендации. – Красноярск.- 2018. – 23с.

Список сокращений

ВПС - врожденный порок сердца
 ДМЖП – дефект межжелудочковой перегородки
 ДМПП – дефект межпредсердной перегородки
 ДОМС ПЖ –двойное отхождение магистральных сосудов от правого желудочка
 Е/А – отношение скорости раннего и позднего диастолического потоков ПЖ
 ЕЖ – единственный желудочек
 ИЛ-1 β - интерлейкин 1 бета
 ИЭ ЛЖ – индекс эксцентричности левого желудочка
 ЛАГ – легочная артериальная гипертензия
 МКК – малый круг кровообращения
 ПЖ – правый желудочек
 ПП – правое предсердие
 СДЛА – систолическое давление в легочной артерии
 СЭФР– сосудистый эндотелиальный фактор роста
 Т6МХ – тест 6-минутной ходьбы
 ТМС – транспозиция магистральных сосудов
 ФИП ПЖ – фракционное изменение площади правого желудочка
 ФК – функциональный класс, фиброзное кольцо трикуспидального клапана
 ЭД – эндотелиальная дисфункция
 ЭТ-1 – эндотелин-1
 NPV – отрицательная прогностическая ценность
 PPV – положительная прогностическая ценность
 PSV– скорость экскурсии трикуспидального кольца
 sPECAM-1 (CD-31) – растворимые молекулы адгезии тромбоцитов
 Se – чувствительность
 Sp – специфичность
 TAPSE – систолическая экскурсия плоскости трикуспидального кольца