

ЭКСПРЕССИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ С ВНУТРИЖЕЛУДОЧКОВЫМИ КРОВОИЗЛИЯНИЯМИ И ПЕРИВЕНТРИКУЛЯРНОЙ ЛЕЙКОМАЛЯЦИЕЙ В РАННЕМ НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Г. С. Голосная^{1*}, доктор медицинских наук,
А. В. Яковлева²,
А. С. Петрухин¹,
В. Х. Барагунова¹,
И. Х. Беляледтинова³,
К. В. Воронкова¹,
Е. М. Карачунская⁴

¹ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

² ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой Управления делами Президента РФ», 121359, Россия, г. Москва, ул. Маршала Тимошенко, д. 15

³ ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова» РАМН, 142782, Россия, Московская обл., Ленинский р-н, пос. Институт полиомиелита, 27-й км Киевского шоссе.

⁴ ГУЗ «Центр планирования семьи и репродукции», 117209, г. Москва, Севастопольский проспект, д. 24а

РЕЗЮМЕ Рассмотрено влияние неспецифических факторов поражения мозга – провоспалительных цитокинов DR5 и ALCAM – на формирование структурных постгипоксических изменений головного мозга у новорожденных. При изучении динамики ALCAM в зависимости от развившихся и выявленных с помощью нейросонографии изменений головного мозга установлено, что максимальные значения концентрации ALCAM регистрировались у новорожденных с сочетанными поражениями головного мозга – внутрижелудочковыми кровоизлияниями и перивентрикулярной лейкомаляцией. Выявлена роль маркера апоптоза DR5 в патогенезе постгипоксических нарушений у новорожденных. Уровень этого фактора, как и ALCAM, коррелирует с развитием деструктивных процессов и имеет большое значение для ингибирования факторов защиты нервных клеток – нейротрофических и ростовых факторов.

Ключевые слова: новорожденный, гипоксия, перинатальное поражение мозга, внутрижелудочковые кровоизлияния, перивентрикулярная лейкомаляция, DR5, ALCAM.

* Ответственный за переписку (corresponding author): e-mail: ggolosnaya@yandex.ru

Изучение воздействия гипоксии на развивающийся мозг новорожденного находится в центре внимания исследователей в течение многих лет, но существенный прорыв в изучении молекулярных механизмов функционирования мозга в условиях нормы и патологии осуществлен лишь в послед-

ние годы благодаря успехам молекулярной генетики и нейробиологии [1–6].

Целью нашей работы стало изучение сывороточной концентрации индукторов апоптоза проапоптотического фактора (DR5) и активированной молекулы лейкоцитарной клеточной адгезии

EXPRESSION OF PROINFLAMMATORY FACTORS IN NEWBORNS WITH INTRAVENTRICULAR HEMORRHAGE AND PERIVENTRICULAR LEUKOMALACIA

Golosnaya G. S., Yakovleva A. V., Petrukhin A. S., Baragunova V. H., Belyaletdinova I. H., Voronkova K. V., Karachunskaya E. M.

ABSTRACT Influence of nonspecific factors of brain injury namely proinflammatory DR5 and ALCAM cytokines on the changes which were revealed by neurosonography was studied. It was stated that maximal values of cellular adhesion molecule concentration (ALCAM) were registered in the newborns with combinative brain injuries: intraventricular hemorrhage and periventricular leukomalacia. It was revealed that DR5 apoptosis marker level correlated with destructive processes development and was of great importance for inhibition of factors of neural cells protection defense namely neurotrophic and stature factors.

Key words: newborns, hypoxia, perinatal brain injury, intraventricular hemorrhage, periventricular leukomalacia, DR5, ALCAM.

(ALCAM) у новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением центральной нервной системой (ЦНС).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 120 новорожденных с гестационным возрастом от 25 до 42 недель, массой тела при рождении от 890 до 4630 г (78 мальчиков, 42 девочки). Дети были разделены 4 группы в соответствии с изменениями, выявленными при нейросонографии: I группа – 30 новорожденных, у которых не выявлено структурных изменений, но отмечалось повышение перивентрикулярной эхогенности от умеренной до выраженной; II группа – 30 детей с перивентрикулярной лейкомаляцией (ПВЛ); III группа – 30 новорожденных с внутрижелудочковыми кровоизлияниями (ВЖК); IV группа – 30 детей с сочетанием ВЖК и ПВЛ.

Контрольная группа была представлена 15 здоровыми доношенными и 15 здоровыми недоношенными детьми без поражения ЦНС. Взятие проб крови у детей контрольной группы осуществлялось при проведении необходимых анализов в стационаре по показаниям (биохимические анализы, общий анализ крови).

Сывороточный уровень DR5 устанавливали с помощью тест-системы фирмы «Biosource» (Бельгия) однократно в возрасте 24–48 часов жизни, когда регистрируется максимальное количество апоптотных клеток. Для определения содержания ALCAM применяли реактивы фирмы «R&D» (Англия). Пробы крови брались трижды: в возрасте менее 48 часов жизни, на 5–7-е и 12–14-е сутки жизни. Полученную сыворотку в объеме 0,5 мл замораживали и хранили при температуре -20°C не более 2 месяцев. Принцип работы всех тест-систем основан на количественном иммуноферментном анализе сэндвичевого типа по стандартному протоколу. Нейросонография выполнялась в течение всего времени наблюдения за ребенком с первых суток поступления в стационар (в среднем 1 раз в 5–7 дней, при необходимости – ежедневно).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «Statistica 5.0». Для оценки статистической значимости различий между группами использовали тест множественного сравнения средних ANOVA с последующим сравнением групп по методу Манна – Уитни. В каждой группе данные сравнивали между собой по методу Вилкоксона. Корреляционную зависимость вычисляли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе не было выявлено достоверных различий уровня исследуемых антигенов

в зависимости от гестационного возраста и времени определения (табл. 1, 2).

При изучении динамики сывороточной концентрации ALCAM и DR5 у новорожденных с гипоксическим поражением ЦНС нами были получены следующие результаты.

Уровень DR5 во всех исследуемых группах был значительно больше, чем в контроле (табл. 1), причем в I группе – в 1,2–2,0 раза, во II и III группах – в 8,5 раза, в IV группе – в 11,5 раза.

Содержание ALCAM у новорожденных II–IV групп было в 3–6 раз выше, чем у детей I группы (табл. 2). При изучении динамики ALCAM в зависимости от наличия выявленных с помощью нейросонографии изменений головного мозга установлено, что максимальные значения концентрации регистрировались у новорожденных IV группы. У них также отмечались самые низкие темпы снижения уровня антигена, что, возможно, отражает активность воспаления и тромбообразования в сосудах и связано с большим объемом пораженной ткани головного мозга и длительным течением процессов организации в очаге постгипоксических изменений.

При статистической обработке рассматривались концентрация изучаемых антигенов в сыворотке крови в зависимости от исхода заболевания (выживаемости). Данные представлены дисперсионного анализа (ANOVA) представлены в таблицах 1 и 2.

Уровень DR5 в сыворотке крови у умерших новорожденных ($p < 0,01$) был значительно выше, чем в контроле: в 2,5–3,0 раза в I группе, в 15 раз – в III и IV, а максимальное его превышение регистрировалось во II группе – в 18 раз (табл. 1). У выживших новорожденных I группы этот показатель не имел статистически значимых различий с контролем ($p > 0,01$), а в остальных группах отмечалось его повышение в 7–10 раз ($p < 0,01$).

Сравнивая полученные результаты, следует отметить, что у выживших детей концентрация ALCAM была ниже, чем у умерших (табл. 2). У новорожденных I группы статистически значимые различия выявлялись на 5–7-е сутки жизни, а в IV группе их не зарегистрировано.

Факторы, определяющие выраженность деструктивного и воспалительного процессов, находились в прямой корреляционной связи с формированием постгипоксических структурных изменений головного мозга у новорожденных: уровень ALCAM и DR5 прямо коррелировал с наличием ПВЛ ($r = 0,94$ и $r = 0,939$ соответственно), ВЖК ($r = 0,68$ и $r = 0,69$) и сочетанного поражения ($r = 0,83$ и $r = 0,797$).

Таблица 1. Сывороточный уровень DR5 в исследуемых группах в зависимости от исхода заболевания, $M \pm SD$

Группа	Среднее значение по группе	DR5, мкг/л	
		в зависимости от исхода	
		у выживших	у умерших
Контрольная	4,1 ± 0,9	—	
I	10,35 ± 9,98*	8,71 ± 6,13*	23,78 ± 10,13*
II	73,22 ± 53,89*,**	59,91 ± 43,1*	159,69 ± 33,19*
III	74,4 ± 38,99*,**	67,78 ± 31,95*	124,87 ± 44,7*
IV	100,72 ± 27,22*,**	88,13 ± 21,02*	130,11 ± 11,58*

Примечание. Статистическая значимость различий: * – между показателями исследуемых групп и значениями контрольной группы ($p < 0,01$); ** – между средними показателями II, III, IV групп и значениями I группы ($p < 0,01$).

Таблица 2. Сывороточный уровень ALCAM в исследуемых группах в зависимости от исхода заболевания и результатов ультразвукового сканирования головного мозга, $M \pm SD$

Группа	ALCAM, мкг/л								
	1-я проба			2-я проба			3-я проба		
	среднее значение по группе	у выживших	у умерших	среднее значение по группе	у выживших	у умерших	среднее значение по группе	у выживших	у умерших
Контрольная	0,036 ± 0,015	—							
I	0,65 ± 0,21*	0,44 ± 0,16	0,59 ± 0,2	0,18 ± 0,12*	0,22 ± 0,09*	0,64 ± 0,15*	0,14 ± 0,09*	0,12 ± 0,09*	0,18 ± 0,12*
II	2,05 ± 0,3*,**	1,34 ± 0,16*	2,2 ± 0,09*	1,94 ± 0,41*,**	1,29 ± 0,2*	2,18 ± 0,12*	0,76 ± 0,16*,**	1,09 ± 0,026*	1,56 ± 0,14*
III	2,44 ± 0,33*,**	2,18 ± 0,11*	2,54 ± 0,06*	2,07 ± 0,41*,**	1,8 ± 0,06*	2,44 ± 0,1*	1,06 ± 0,48*,**	1,02 ± 0,1	1,3 ± 0,17
IV	4,33 ± 0,73*,**	3,68 ± 1,04	4,89 ± 2,06	2,93 ± 0,38*,**	2,3 ± 1,01	3,6 ± 0,9	1,67 ± 0,27*,**	0,9 ± 0,28	1,82 ± 0,16

Примечание. Статистическая значимость различий: * – между показателями исследуемых групп и значениями контрольной группы ($p < 0,01$); ** – между средними показателями II, III, IV групп и значениями I группы ($p < 0,01$).

Необходимо отметить, что концентрация описанных факторов была максимальной у новорожденных с сочетанием ВЖК и ПВЛ. Повышение уровня индукторов апоптоза в первые 48 часов жизни доказывает, что критический момент в программе поражения ткани возникает раньше, чем необратимое нарушение в клетках, и прогноз формирования структурных изменений в тканях определяется значительно раньше их морфологической визуализации [7–9].

ВЫВОДЫ

Результаты, полученные в исследовании, позволили во многом углубить понимание патогенеза постгипоксических изменений головного мозга у новорожденных, выявить роль провоспалительных цитокинов, а также выделить факторы, которые возможно применить как маркеры при диагностике патологических процессов в ткани мозга в раннем неонатальном периоде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гомазков, О. А. Апоптоз нейрональных структур и роль нейротрофических ростовых факторов. Биохимические механизмы эффективности пептидных препаратов мозга / О. А. Гомазков // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2002. – № 7, прил. – С. 17–21.
2. Гомазков, О. А. Нейрохимия ишемических и возрастных патологий мозга / О. А. Гомазков. – М, 2003. – 200 с.
3. Раевский, К. С. Окислительный стресс, апоптоз и повреждение мозга / К. С. Раевский, В. Г. Башкатова // Нейрохимия. – 1996. – Т. 13, № 2. – С. 61–64.
4. Робинсон, М. В. Апоптоз и цитокины / М. В. Робинсон, В. А. Труфакин // Успехи современной биологии. – 1999. – № 119(4). – С. 359–367.
5. Рожнова, У. А. Функциональная активность фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α) в центральной нервной системе / У. А. Рожнова, А. О. Алесенко // Нейрохимия. – 1999. – № 16(2). – С. 118–132.
6. Apoptosis and white matter injury in preterm infants / S. Chamnanvanakij [et al.] // Pediatr. Dev. Pathol. – 2002. – Mar-Apr. – № 5(2). – P. 184–189.
7. Apoptosis signaling by death receptors / K. Schulze-Osthoff [et al.] // Eur. J. Biochem. – 1998. – Vol. 254. – P. 439–459.
8. Dammann, O. Maternal intrauterine infection, cytokines, and brain damage in the preterm newborn / O. Dammann, A. Leviton // Pediatr. Res. – 1997. – Vol. 42. – P. 1–8.
9. Growth factors in infant germinal matrix: relationship to extracellular matrix and cell adhesion molecules / Y. Nakamura [et al.] // J. of Neuropathol. and Exp. Neurology. – 1998. – Vol. 57, № 9. – P. 858–865.