

Клинико-лабораторная оценка функции эндотелия при развитии перинатальных поражений ЦНС у новорожденных от матерей с гестозом

И.Г. Попова, Т.В. Чаша, Г.Н. Кузьменко, О.Г. Ситникова, С.Б. Назаров

Clinical and laboratory evaluation of endothelial function in the development of perinatal CNS lesions in neonates born to mothers with gestosis

I.G. Popova, T.V. Chasha, G.N. Kuzmenko, O.G. Sitnikova, S.B. Nazarov

Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова

Проведена клинико-лабораторная оценка функции эндотелия при развитии перинатальных поражений ЦНС у доношенных новорожденных, родившихся у матерей с гестозом. Обследованы 45 доношенных новорожденных с перинатальными поражениями ЦНС легкой и средней степени тяжести, родившихся у матерей с гестозом, и 25 новорожденных, родившихся у женщин с физиологическим течением беременности. Установлено, что у новорожденных с перинатальными поражениями ЦНС, родившихся у матерей с гестозом, отмечается дисфункция эндотелия, которая проявляется нарушением эндотелиальных механизмов барьерной функции сосудистой стенки, характеризующимся изменением проницаемости сосудов эндотелия, межклеточной интеграции и снижением процессов ангиогенеза.

Ключевые слова: новорожденные дети, церебральная ишемия, дисфункция эндотелия, оксид азота, гомоцистеин.

Clinical laboratory tests were carried out to evaluate endothelial function when full-term neonates born to mothers with gestosis developed perinatal CNS lesions. Examinations were made in 45 full-term neonates with mild and moderate perinatal CNS lesions, who had been born to mothers with gestosis, and in 25 neonates born to women with physiological pregnancy. The newborn infants with perinatal CNS lesions, who had been born to mothers with gestosis, were found to have endothelial dysfunction that appeared as impairments in the mechanisms regulating the endothelial barrier function of the vascular wall, which were characterized by altered endothelial vascular permeability, intercellular integration, and diminished angiogenic processes.

Key words: neonates, cerebral ischemia, endothelial dysfunction, nitric oxide, homocysteine.

В патогенезе гипоксических поражений ЦНС плода и новорожденного особое значение имеют расстройства церебральной гемодинамики, что ведет не только к нарушению метаболических процессов в мозговой ткани, но может задерживать развитие самой сосудистой системы мозга, нарушать ее реактивность в ответ на воздействие факторов внешней среды [1]. Высокая повреждаемость мозга у новорожденных, антенатально развивающихся на фоне гестоза матери, связана с его незрелостью, восприимчивостью цереб-

рального кровотока к нарушениям общей гемодинамики и повышенной проницаемостью капилляров [2]. В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что при гестозе имеет место генерализованный эндотелиоз сосудов, в основном капилляров [3].

Эндотелиальная дисфункция у матери при гестозе приводит к развитию фетоплацентарной недостаточности, хронической внутриутробной гипоксии плода [4], а перенесенная хроническая внутриутробная гипоксия может являться одним из ключевых факторов перинатальных поражений нервной системы новорожденного [5]. Кроме того, выявлена связь асфиксии с дальнейшим нарушением адаптации у этих новорожденных [6]. Существует мнение, что синдром эндотелиальной дисфункции в фетоплацентарном комплексе может формироваться даже при физиологической беременности [7]. К основным функциям эндотелия относятся барьерно-транспортная, метаболическая, функции поддержания регуляции агрегатного состояния крови, сосудистого тонуса, иммунных реакций, регуляции пролиферативных процессов [8].

© Коллектив авторов, 2010

Ros Vestn Perinatol Pediat 2010; 4:18–22

Адрес для корреспонденции: Попова Ирина Геннадьевна — м.н.с. лаб. клинической биохимии и медицинской генетики Ивановского НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова
Чаша Татьяна Валентиновна — д.м.н., проф., зав. отделением второго этапа выхаживания недоношенных детей того же института
Кузьменко Галина Николаевна — к.м.н., в.н.с. лаб. клинической биохимии и медицинской генетики того же института
Ситникова Ольга Григорьевна — к.б.н., с.н.с. той же лаборатории
Назаров С.Б. — д.м.н., проф., зав. лаб. клинической биохимии и медицинской генетики того же института
153731 г. Иваново, ул. Победы, д. 20

Целью настоящей работы явилась лабораторная оценка функции эндотелия у доношенных новорожденных с перинатальными поражениями ЦНС, родившихся у матерей с гестозом.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследованы 70 доношенных новорожденных в 1-е сутки жизни. Из них основную группу составили 45 детей с перинатальными поражениями ЦНС в виде церебральной ишемии I—II степени. По результатам клинического обследования среди детей основной группы выделены две подгруппы: 1-я — 18 детей с перинатальными поражениями ЦНС легкой степени тяжести; 2-я — 27 детей с перинатальными поражениями ЦНС средней степени тяжести. Дети основной группы родились со средними показателями массы тела $3457 \pm 84,7$ г, длиной $52,6 \pm 0,42$ см и гестационным возрастом $39,0 \pm 0,2$ нед. Контрольную группу составили 25 доношенных новорожденных с массой тела $3386 \pm 146,8$ г, длиной $52,8 \pm 0,47$ см и гестационным возрастом $38,5 \pm 0,3$ нед.

У всех обследуемых детей проводили исследование ряда биохимических параметров сыворотки крови, а также определение десквамированных эндотелиоцитов в плазме крови.

Содержание суммарных нитритов и нитратов определяли путем восстановления нитратов в нитриты в присутствии хлорида ванадия [9], альбумина — с помощью наборов фирмы *Cotman*, десквамированных эндотелиоцитов — методом *J. Hladovec* (цит. по [8]), нитротирозина набором фирмы «НВТ» (Нидерланды), гомоцистеина — набором фирмы «Axis Shield» (США), металлопротеиназы-9, VE-кадгерина (кадгерина сосудистого эндотелия) и sP-селектина — наборами фирмы «Bender MedSystems» (Австрия), васкулоэндотелиального фактора роста — набором фирмы «BIOSOURCE» (США), атриального натрийуретического пептида — набором фирмы «BIOMEDICA» (Австрия) методом иммуноферментного анализа. Полученные данные обрабатывали методами вариационного анализа с расчетом доверительных интервалов ($\lambda=0,05$) и использованием *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки эндотелиальной функции у новорожденных изучали уровень суммарных нитритов и нитратов, нитротирозина, гомоцистеина и количества десквамированных эндотелиоцитов в крови. Среди многочисленных факторов эндотелиального происхождения признанным маркером эндотелиальной дисфункции является оксид азота (NO) [4]. Данные литературы указывают на его участие в регуляции со-

судистого тонуса, что прежде всего обеспечивает нормальное кровообращение жизненно важных органов плода и постнатальную адаптацию новорожденного [1]. Оксид азота постоянно продуцируется эндотелием в небольших количествах (так называемый базовый фон), а при различных воздействиях повреждающих факторов его синтез в эндотелиальных клетках значительно повышается [1].

По данным проведенного исследования, концентрация суммарных нитритов и нитратов у всех новорожденных с перинатальными поражениями ЦНС значительно увеличена ($p < 0,01$). На наш взгляд, повышение концентрации нитритов и нитратов в крови новорожденных с данной патологией направлено не только на обеспечение вазодилаторного эффекта, но и на обрыв цепей свободнорадикальных процессов в условиях активации окислительных реакций.

По данным литературы, нитриты могут взаимодействовать с ненасыщенными жирными кислотами и с тирозиновыми остатками белков, входящих в состав клеток и субклеточных структур, с образованием нитротирозина, который является специфическим маркером изменений белков [10]. Анализ полученных нами результатов показал значительное повышение содержания нитротирозина у детей с перинатальными поражениями ЦНС средней степени тяжести ($63,1 \pm 3,12$ нмоль/л; $p < 0,001$). У детей с перинатальными нарушениями легкой степени достоверных различий в содержании нитротирозина по сравнению с контролем не выявлено. Значительное накопление нитротирозина неизбежно приводит к нарушению функционирования клеток эндотелия сосудов, так как этот продукт метаболизма NO способен оказывать на клетку и сосуды токсическое действие [11].

Гомоцистеин служит одним из факторов повреждения эндотелия сосудов. Гомоцистеин легко окисляется в плазме крови с образованием гомоцистина, в результате чего образуются перекисные ионы, инициируется перекисное окисление липидов, что приводит к повреждению поверхности эндотелиальных клеток и образованию окисленных липопротеинов плазмы крови. По результатам наших исследований, у детей контрольной группы уровень гомоцистеина составил $4,34 \pm 0,31$ мкмоль/л, у новорожденных с перинатальными поражениями легкой и средней степени тяжести — $5,31 \pm 0,58$ и $5,33 \pm 0,53$ мкмоль/л соответственно ($p > 0,05$; см. таблицу).

Согласно данным литературы, гестозы беременных сопровождаются повышением степени десквамации эндотелия [4]. Установлено, что определение содержания десквамированных эндотелиоцитов в крови отражает степень повреждения сосудов, о чем свидетельствует более высокое значение этого показателя при заболеваниях, традиционно сопровождающихся повреждением микро- и макрососудов [12].

Проведенным нами исследованием установлено

Таблица 1. Показатели функции эндотелия у новорожденных, родившихся у матерей с гестозом, в зависимости от степени перинатального поражения ЦНС

Показатель в крови	Контроль (n=25)	Дети с перинатальным поражением ЦНС	
		легкая степень (n=18)	средняя степень (n=27)
Альбумин, г/л	38,6±0,58	35,5±0,36**	35,4±0,45#
Десквамированные эндотелиоциты, количество клеток · 10 ⁴ /л	8,76±1,04	18,2±2,39#	21,7±1,16#
Суммарные нитриты, мкмоль/л	137,2±8,81	164,8±13,5	180,6±11,5**
Нитротирозин, нмоль/мл	45,2±1,99	56,5±5,77	63,07±3,12#
Гомоцистеин, мкмоль/л	4,34±0,31	5,31±0,58	5,33±0,53
Васкулоэндотелиальный фактор роста, пг/мл	144,3±10,9	61,2±8,94*	75,9±15,7**
Атриальный натрийуретический пептид, нмоль/мл	0,31±0,07	0,17±0,05	0,15±0,03*
VE-кадгерин, нг/мл	20,4±3,24	14,5±5,04	4,73±0,87**
Металлопротеиназа-9, нг/мл	47,4±1,56	56,5±3,45*	56,5±3,14*
sP-селектин, нг/мл	238,2±33,0	248,4±36,0	365,8±38,8*

Примечание. # Достоверность рассчитана в сравнении с группой контроля: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; # — $p < 0,001$.

достоверное повышение содержания циркулирующих десквамированных эндотелиоцитов в крови у новорожденных с перинатальными поражениями ЦНС легкой и средней степени тяжести, рожденных от матерей с гестозом. Причем у детей со средней степенью перинатальных поражений данный показатель был повышен в 2,5 раза, что предполагает более высокую степень повреждения эндотелиальных сосудов.

Таким образом, у новорожденных с перинатальными поражениями ЦНС легкой и средней степени тяжести, родившихся у матерей с гестозом, установлено повышение содержания NO, нитротирозина и количества десквамированных эндотелиоцитов в крови. По-нашему мнению, эти изменения свидетельствуют о развитии у детей эндотелиальной дисфункции, приводящей к нарушению микроциркуляции и расстройству церебральной гемодинамики.

Развитие эндотелиальной дисфункции возможно при нарушении любой из многочисленных функций эндотелия. В наших исследованиях проведена оценка барьерной функции сосудистой стенки: состояние проницаемости и межклеточной интеграции эндотелия. Для оценки проницаемости сосудов исследовали концентрацию альбумина, атриального натрийуретического пептида и васкулоэндотелиального фактора роста — маркера регуляции сосудистой проницаемости [13].

Известно, что альбумин — белок сыворотки крови, синтезирующийся в печени; он отвечает за поддержание онкотического давления, распределение жидкости в организме, осуществляет транспорт многих веществ [14]. В нашем исследовании выявлено снижение содержания альбумина у детей с перина-

тальными поражениями ЦНС по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

По данным литературы, атриальному натрийуретическому пептиду отводится важная роль в регуляции объема натрия и воды в организме [15]. Нами отмечена тенденция к снижению этого показателя у детей с перинатальными нарушениями нервной системы легкой степени тяжести ($0,17 \pm 0,05$ нмоль/мл) и достоверно значимое снижение его у детей с нарушениями средней степени тяжести ($0,15 \pm 0,03$ нмоль/мл; $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($0,31 \pm 0,07$ нмоль/мл). Вероятно, эти изменения отражают компенсаторный механизм для поддержания нормального уровня натрия и воды в организме детей с перинатальными поражениями ЦНС.

Содержание васкулоэндотелиального фактора роста у детей с перинатальными поражениями нервной системы было достоверно ($p < 0,001$) сниженным по сравнению с новорожденными контрольной группы ($144,34 \pm 10,88$ пг/мл) и при легкой и при средней степени тяжести — соответственно $61,2 \pm 8,94$ и $75,9 \pm 15,7$ пг/мл. Согласно сведениям литературы, снижение данного показателя является одним из основных факторов развития тяжелых перинатальных поражений ЦНС [16]. Полученные нами результаты позволяют установить значение этого показателя при легкой и среднетяжелой перинатальной патологии нервной системы.

Таким образом, снижение концентрации альбумина, васкулоэндотелиального фактора роста и атриального натрийуретического пептида, на наш взгляд, свидетельствует о нарушении проницаемости эндотелия сосудов у новорожденных с перинатальными по-

ражениями центральной нервной системы.

Для оценки межклеточной интеграции эндотелиальных сосудов исследовали содержание VE-кадгерина, металлопротеиназы-9 и sP-селектина. VE-кадгерин — трансмембранный белок, который играет важную роль в функционировании эндотелия, контролируя образование межклеточных соединений. При анализе полученных данных выявлено некоторое снижение содержания этого белка ($14,5 \pm 5,04$ нг/мл) у новорожденных детей с перинатальными поражениями ЦНС легкой степени тяжести и достоверное снижение ($4,73 \pm 0,87$ нг/мл) при поражениях средней степени тяжести по сравнению с детьми, рожденными от матерей с физиологически протекавшей беременностью ($20,39 \pm 3,24$ нг/мл). Более выраженное снижение содержания VE-кадгерина у детей с перинатальными нарушениями нервной системы средней степени тяжести свидетельствует о значительных изменениях в структуре сосудистой стенки у этих детей.

Белок P-селектин транслоцируется на поверхности клетки. Его физиологическая роль заключается в опосредовании адгезии лейкоцитов к активированному эндотелию в процессе острого воспаления. Нами выявлено увеличение содержания sP-селектина у детей с перинатальными поражениями ЦНС средней степени тяжести по сравнению с контролем ($p < 0,05$). На наш взгляд, увеличение данного показателя свидетельствует об активации сосудистого эндотелия у этих детей.

Металлопротеиназа-9 является белком, контролирующим процесс ангиогенеза. Установлена роль указанного белка в процессах образования эндогенных ингибиторов ангиогенеза [17]. По результатам нашего исследования выявлено повышение на 20% содержания металлопротеиназы-9 в крови новорожденных с перинатальными поражениями ЦНС ($p < 0,05$), что, по-видимому, связано с активацией ангиогенеза у этих детей. Таким образом, у детей, родившихся у матерей с гестозом, выявлено снижение показателей VE-кадгерина, повышение содержания sP-селектина и ме-

таллопротеиназы-9, свидетельствующее о нарушении барьерной функции эндотелия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования позволяют прийти к заключению, что эндотелиальная дисфункция является одним из патогенетических механизмов формирования у новорожденных перинатальных поражений ЦНС. Степень дисфункции связана с тяжестью ЦНС. При легкой и средней степени тяжести перинатального поражения ЦНС о повреждении эндотелия свидетельствует повышение количества десквамированных эндотелиоцитов в крови. Нарушения барьерной функции сосудистой стенки характеризуются снижением концентрации сосудисто-эндотелиального фактора роста, указывающим на увеличение проницаемости сосудистой стенки, а также повышением содержания металлопротеиназы-9, отражающим повреждение базальной мембраны сосудов. Снижение содержания альбумина в крови косвенно подтверждает повышение проницаемости сосудистой стенки у детей с перинатальным поражением ЦНС. У новорожденных со средней степенью тяжести поражения нервной системы в дополнение к перечисленным факторам наблюдается снижение содержания VE-кадгерина, увеличение содержания sP-селектина в крови, что указывает на выраженное повреждение сосудистой стенки. Повышение уровня суммарных нитратов, нитритов, нитротирозина и снижение уровня атриального натрийуретического пептида в крови у детей косвенно подтверждают степень нарушения функции сосудистой стенки.

Таким образом, в формировании перинатальных поражений нервной системы у детей, родившихся у матерей с гестозом, большое значение имеет развитие эндотелиальной дисфункции, проявляющейся нарушением барьерной функции эндотелия сосудов, в частности нарушением его проницаемости и межклеточной интеграции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева А.А., Евсюкова И.И. Продукция окиси азота и состояние центральной гемодинамики у новорожденных, здоровых и перенесших гипоксию // Педиатрия. 2004. № 1. С. 18—22.
2. Антонов А.Г., Буркова А.С., Байбарина Е.Н. Профилактика и интенсивная терапия критических состояний, обусловленных церебральными нарушениями у новорожденных // Педиатрия. 1997. № 5. С. 38—41.
3. Сидорова И.С., Габимова А.Г., Никитина Н.А., Бардачова А.В. Эндотелиальная дисфункция в развитии гестоза // Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. 2007. № 1. С. 41—46.
4. Блошинская И.А. Роль основных вазоактивных факторов сосудистого эндотелия // Рос. вестн. акушера-гинеколога. 2003. № 4. С. 7—10.
5. Шалина Р.И., Шаряпова О.Ш., Выхристюк Ю.В. и др. Тяжелый гестоз. Ближайшие результаты развития детей // Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. 2007. № 4. С. 43—48.
6. Симонова Л.В., Котлукова Н.П., Гайдукова Н.В. Постгипоксическая дезадаптация сердечно-сосудистой системы у новорожденных детей // Рос. вестн. перинатол. и педиат. 2002. № 2. С. 42—49.
7. Климов В.А. Эндотелий фетоплацентарного комплекса при физиологическом и патологическом течении беременности // Акуш. и гинекол. 2008. № 2. С. 7—10.
8. Макацария А.Д., Бицадзе О.В., Ганиевская Н.Г. Антифосфолипидный синдром в акушерской практике. М., 2003. 250 с.
9. Miranda K.M., Espey M.G., Wink D.A. Rapid, Simple Spectro-

- photometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite // *Biology Chemistry*. 2001. Vol. 5, № 1. P. 62—71.
10. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицына Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. М., 1997. 156 с.
 11. Филиппова Н.А., Каминская Л.Ю., Михаленкова И.В. Продукты NO-синтазной активности и воспаления дыхательных путей: метаболизм, патоморфологическая роль при аллергических заболеваниях // *Клин. лабор. диагностика*. 2006. № 8. С. 3—8.
 12. Петрищев Н.Н., Беркович О.А. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиальных клеток в крови // *Клин. лабор. диагностика*. 2001. № 1. С. 50—52.
 13. Бурлев В.А., Зайдиева З.С., Тютюник В.Л., Ильясова Н.А. Системный и локальный ангиогенез у беременных с акушерской патологией // *Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2007. № 6. С. 55—61.
 14. Афанасьева А.Н., Евтушенко В.А. Связывающая способность альбумина у больных раком желудка // *Клин. лабор. диагностика*. 2005. № 6. С. 18—20.
 15. Назаренко Г.И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М.: Медицина, 2006. 689 с.
 16. Голосная Г.С. Роль ингибиторов апоптоза в диагностике и прогнозировании исходов перинатальных гипоксических поражений головного мозга у новорожденных // *Педиатрия*. 2005. № 3. С. 30—35.
 17. Спирина Л.В. Металлопротеиназы как регуляторы неангиогенеза в злокачественных новообразованиях // *Сиб. онколог. журнал*. 2007. № 1. С. 68—71.

Поступила 01.01.10

Длительная терапия стероидами и рост детей со стероидзависимой формой нефротического синдрома

Long-term steroid treatment and growth: a study in steroid-dependent nephrotic syndrome

J. Simmonds, N. Grundy, R. Trompeter, K. Tullus

Arch. Dis. Child. 2010. Vol. 95, № 2. P. 146—149

Известно, что применение стероидных препаратов в высоких дозах вызывает задержку роста у детей. Данное исследование направлено на изучение допустимых доз преднизолона, не препятствующих нормальному росту ребенка.

Оценивались ростовые показатели 41 ребенка (в возрасте от 1,92 до 13,2 года) со стероидзависимой формой нефротического синдрома. Для оценки использовались данные катамнестических карт, применяемых во время наблюдения больных в больнице Грейт Ормонд Стрит (Лондон, Великобритания). Сроки наблюдения составили от 1,38 до 8,43 года, в среднем 4,2 года, в сумме 172 года. Показатель погрешности и объем стандартной погрешности были рассчитаны по разным клиникам и сравнены с дозами преднизолона (конвертированы в эквивалентные суточные дозировки при нормальном режиме дня).

Средняя доза преднизолона составила 0,44 мг/кг в сутки (от 0,06 до 1,45 мг/кг в сутки). Средние изменения объема погрешности за время исследования составили $-0,02$. При применении преднизолона в дозе менее 0,74 мг/кг в сутки не выявлено негативного влияния на рост ребенка. При использовании более высоких дозировок отмечалось незначительное снижение высоты стандартной погрешности ($-0,14$).

Установлено, что применение преднизолона в используемых дозах при лечении стероидзависимой формы нефротического синдрома у детей не оказывает существенного влияния на рост. Наблюдалось некоторое снижение роста в периоды применения доз более 0,75 мг/кг в сутки.

Референт *И.М. Османов*