

© КАРПОВА Л.Н., ТАРАНУШЕНКО Т.Е., САЛМИНА А.Б.,
УСТИНОВА С.И.

УДК 616.005.4-008.9-053.31

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ НА ФОНЕ АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Л.Н. Карпова, Т.Е. Таранушенко, А.Б. Салмина, С.И. Устинова
Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.
Войно-Ясенецкого, ректор – д.м.н., проф. И.П. Артюхов; кафедра педиатрии
ИПО, зав. – д.м.н., проф. Т.Е. Таранушенко; кафедра биохимии с курсами
медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, зав. – д.м.н.,
проф. А.Б. Салмина; Красноярская краевая детская больница, гл. врач – Л.А.
Соловьева.

Резюме. *Представлены результаты комплексного исследования нейроспецифической енолазы (NSE) и глиального фибриллярного белка (GFAP) у новорожденных с церебральной ишемией на фоне анемического синдрома. Показана четкая зависимость степени повышения содержания NSE и GFAP в периферической крови от тяжести церебральных нарушений у новорожденных, однако значимых отличий в уровнях GFAP и NSE, при различных значениях гемоглобина крови у обследованных детей, не получено, что свидетельствует об отсутствии существенного вклада анемии в глубину поражения мозга у новорожденных при церебральной ишемии.*

Ключевые слова: *новорожденные, церебральная ишемия, нейроспецифическая енолаза, глиальный фибриллярный белок, анемия.*

Карпова Людмила Николаевна– аспирант каф. педиатрии ИПО КрасГМУ, зав. отделением патологии новорожденных ККБУЗ ККДБ; e-mail: lu68@bk.ru, тел. 8(391)2434725.

Таранушенко Татьяна Евгеньевна– д.м.н., проф., зав. каф. педиатрии ИПО КрасГМУ, тел.: 8(391)2433952.

Салмина Алла Борисовна – д.м.н., проф., зав. каф. биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ, тел. 8(391)2280769.

Использование передовых технологий выхаживания новорожденных в отделениях интенсивной терапии и реанимации позволяет сохранить жизнь новорожденным детям. Вместе с тем, среди позитивных сдвигов снижения младенческой смертности растет проблема ранней детской инвалидности. В структуре детской инвалидности патология нервной системы составляет около 50% и 70-80% из них обусловлены перинатальными факторами [1, 4, 5].

В связи с этим, приоритетными направлениями перинатальной медицины являются профилактика, диагностика и лечение поражений нервной системы плода и новорожденного, возникающие на различных этапах перинатального развития. Чрезвычайно перспективным направлением для изучения патогенетических механизмов церебральных повреждений является иммунохимическое определение нейроспецифических белков (НСБ) в различных биологических жидкостях (кровь, ликвор). НСБ тканеспецифичны для нервной системы и гистогенетически являются продуктами жизнедеятельности нейроэпителиальной ткани – нейронов и глиальных клеток [3, 9].

Цель настоящего исследования – на основании динамики маркеров повреждения нейронов нейроспецифической енолазы (NSE) и астроцитов глиального кислого фибриллярного белка (GFAP) оценить вклад

анемического синдрома в поражение нервной ткани при гипоксическом поражении центральной нервной системы (ЦНС) у новорожденных.

Материалы и методы

Обследовано 107 доношенных новорожденных детей в возрасте с 1-го по 28-й дни жизни, находившихся на лечении в отделении патологии новорожденных Красноярской краевой детской больницы с диагнозом церебральная ишемия II и III степени тяжести. Из них 25 детей имели церебральную ишемию II и III степени и анемический синдром (1 группа); 28 новорожденных были с церебральной ишемией II и III степени без анемического синдрома (2 группа); у 25 новорожденных выявлена анемия без патологии нервной системы (3 группа); 29 человек – условно здоровые дети, без патологии нервной системы и без анемии, 2-й группы здоровья (4 группа). Степень тяжести церебральной ишемии оценивалась по критериям, представленным Ю.И. Барашневым в 2001 году [1]. Критерии анемии новорожденных – клинико-гематологический симптомокомплекс: бледность кожи и слизистых оболочек с нарушением функции внутренних органов, снижение содержания гемоглобина в крови ниже 150 г/л, эритроцитов менее $4,5 \times 10^{12}/л$ и гематокрита менее 0,4 у новорожденных первых двух недель жизни, на 3-4 неделе – гемоглобин менее 120 г/л, эритроциты – менее $4,0 \times 10^{12}/л$ [2, 7].

Определение NSE и GFAP белка проводилось дважды: при поступлении пациентов в стационар (ранний неонатальный период) и на 25-28 день жизни (поздний неонатальный период) методом иммуноферментного анализа по стандартному протоколу с использованием наборов Bender Medsystems (США) на базе ООО «Лаборатория ИХМИ». Материалом для проведения биохимического анализа была венозная кровь в объеме 1,0 мл, взятая у обследуемых детей натошак из вены в сухую центрифужную пробирку. Пробирку с кровью, в целях лучшей ретракции сгустка форменных элементов, выдерживали в термостате при 37°C в течение 40-45 мин. После этого пробирку центрифугировали 20 мин. при 3000 об/мин и сыворотку отделяли от осадка. Отдельные образцы сывороток содержали в морозильной камере

холодильника при температуре минус 20°C до проведения исследований в течение срока, не превышавшего 6 месяцев.

Статистическая обработка материала проводилась согласно общепринятым методам статистического анализа, с использованием подходов описательной статистики. Достоверность различий определялась при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни. Критическое значение уровня значимости принималось равным ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

В раннем неонатальном периоде самый высокий уровень NSE отмечен во 2 группе детей – $8,26 \pm 7,75$ нг/мл; у новорожденных 1 группы значение NSE было несколько ниже – $7,02 \pm 5,49$ нг/мл без достоверных различий с предыдущей группой ($p = 0,51$); в 3 и 4 группах уровень NSE был минимальным – $3,102 \pm 1,59$ нг/мл и $3,7 \pm 2,0$ нг/мл соответственно, без значимых различий между группами ($p = 0,23$), и достоверно отличался от первых двух групп ($p = 0,001$ и $p = 0,006$ соответственно) (табл. 1).

Высокий средний уровень GFAP был выявлен во 2 группе обследованных детей – $0,042 \pm 0,049$ нг/мл, что достоверно выше данного показателя у новорожденных в 4 группе – $0,016 \pm 0,03$ нг/мл ($p = 0,02$) и незначительно отличалось от 1 ($0,023 \pm 0,036$ нг/мл) и 3 ($0,021 \pm 0,027$ нг/мл) групп детей ($p_1 = 0,12$, $p_2 = 0,06$). Выявленные высокие показатели NSE и GFAP во 2 группе обследованных новорожденных детей свидетельствуют о повреждении плазматических мембран клеток мозга и повышении проницаемости гематоэнцефалического барьера в связи с перенесенной церебральной ишемией, более низкие их значения у детей с церебральной ишемией и анемическим синдромом позволяют считать, что анемия не вносит существенного вклада в поражение структур мозга у новорожденных.

В позднем неонатальном периоде отмечена достоверная положительная динамика NSE с достижением уровня контрольных значений, как в 1 – $3,18 \pm 1,28$ нг/мл, так и 2 группах детей – $4,12 \pm 2,23$ нг/мл ($p = 0,001$ и $p = 0,012$), при отсутствии значимых различий между ними (средний срок между заборами проб крови на NSE составил 21 день) (табл. 1). Следовательно,

обратное развитие неврологической симптоматики у новорожденных сопровождается достаточно быстрой нормализацией уровня NSE.

Таблица 1

**Уровень нейроспецифической енолазы (нг/мл) в ранний и поздний
неонатальный периоды, $M \pm \sigma$**

Примечание: по критерию Манна – Уитни: ¹ – ($p < 0,01$); ² – ($p < 0,01$) – достоверность различий с 3 и 4 группами в ранний неонатальный период; ³ – ($p < 0,01$); ⁶ – ($p < 0,05$) – достоверность различий между ранним и поздним неонатальными периодами; ⁴ – ($p < 0,001$); ⁵ ($p < 0,01$) – достоверность различий с 3 и 4 группами в ранний неонатальный период; ⁷ – ($p < 0,05$) – достоверность различий между 2 и 4 группами;

Активность GFAP, по нашим данным, в поздний неонатальный период не показала достоверного снижения или увеличения (табл. 1). Данный результат, вероятно, можно объяснить особенностями продукции рассматриваемого астроцитарного белка, для которого характерно волнообразное нарастание с максимальным приростом с 24 по 47 день жизни [6, 8].

Одним из важных клинических критериев тяжести повреждения мозга у новорожденных детей является судорожный синдром. Исходя из этого, нами была предпринята попытка сопоставления неврологической симптоматики с активностью нейроспецифических белков и гематологическими изменениями в ранний и поздний неонатальные периоды (табл. 2). У обследованных детей судорожный синдром в раннем неонатальном периоде диагностирован у 10 ($40 \pm 9,8\%$) детей 1 группы и в 14 ($50 \pm 9,4\%$) случаях – во 2 группе.

Активность NSE в плазме крови была самой высокой у новорожденных с судорожным синдромом и составила в раннем неонатальном периоде у больных 1 группы – $8,96 \pm 6,0$ нг/мл, во 2 группе – $9,73 \pm 9,87$ нг/мл. У новорожденных без судорог уровень данного белка был в 1,5 – 2 раза ниже (1 группа – $4,99 \pm 2,7\%$, 2 группа – $6,8 \pm 4,77$ нг/мл).

Таблица 2

**Сравнение средних значений нейроспецифических белков и показателей
красной крови у детей с судорожным синдромом в раннем и позднем
неонатальных периодах, $M \pm \sigma$**

Примечание: по точному критерию Фишера: ¹ – достоверность различий во 2 группе по числу детей с судорожным синдромом в ранний и поздний неонатальные периоды ($p<0,05$). По критерию Манна – Уитни: ² – ($p<0,05$) – достоверность различий со 2 группой в раннем неонатальном периоде; ³ – ($p<0,05$) – достоверность различий между подгруппами; ⁴ – ($p<0,01$) ⁵ – ($p<0,05$) – достоверность различий в ранний и поздний неонатальные периоды у детей без судорог.

В позднем неонатальном периоде выявлена положительная клиническая динамика на фоне лечения: частота судорожного синдрома у детей уменьшилась в 1 группе на 50%, во 2 группе количество новорожденных с судорогами сократилось до 5 пациентов ($17,9 \pm 7,2\%$, $p=0,023$). В этом периоде значения NSE имели тенденцию к снижению, но оставались сравнительно высокими у новорожденных с судорожным синдромом во 2 группе - $5,39 \pm 4,5$ нг/мл без достоверных отличий в сравнении с ранним неонатальным периодом ($p=0,07$). В других подгруппах показатели NSE приближались к контрольным значениям.

Активность GFAP в раннем неонатальном периоде у новорожденных 1 группы не имела достоверных различий в подгруппах детей с судорогами ($0,010 \pm 0,02$ нг/мл) и без судорожного синдрома ($0,026 \pm 0,04$ нг/мл) ($p=0,26$). Средние значения GFAP у новорожденных без судорожного синдрома имели тенденцию к более низким величинам в сравнении с показателями у детей с судорогами и составили в 1 группе – $0,026 \pm 0,04$ нг/мл и во 2 группе – $0,037 \pm 0,037$ нг/мл. Стойкий судорожный синдром, сохраняющийся в позднем неонатальном периоде, выявленный у детей с церебральной ишемией без анемического синдрома, сопровождался высоким уровнем GFAP без его снижения к концу периода новорожденности. Показатель GFAP во 2 группе составил $0,055 \pm 0,059$ нг/мл в раннем неонатальном периоде, оставался повышенным в позднем неонатальном периоде – $0,053 \pm 0,036$ нг/мл. Полученные данные еще раз подтверждают предположение об отсутствии влияния анемии у больного на тяжесть поражения мозга [10]. Вместе с тем, результаты исследования выявляют, что более глубокое поражение мозга сопровождается повышением данного НСБ не только в ранний неонатальный период, но и сохраняются на фоне выраженной неврологической

симптоматики в течение всего периода новорожденности, что может служить диагностическим маркером в оценке тяжести церебральной ишемии.

При сравнении показателей крови у детей с судорожным синдромом выявлены следующие изменения (табл. 2): в 1 группе новорожденных с судорогами и без них – анемия, выявляемая в раннем неонатальном периоде (Hb $128,6 \pm 17,08$ г/л и $130,6 \pm 23,0$ г/л), сохранялась и к концу месяца в обеих подгруппах (Hb $101,6 \pm 8,8$ г/л и $109,3 \pm 11,7$ г/л) с достоверным снижением показателей гемоглобина и гематокрита к концу первого месяца жизни ($p=0,002$, $p=0,03$). Во 2 группе детей показатели гемоглобина, гематокрита и эритроцитов в ранний и поздний неонатальные периоды, вне зависимости от судорожного синдрома, соответствовали физиологическим нормам. У детей 3 группы к концу неонатального периода уровень гемоглобина, гематокрита, эритроцитов восстанавливался, данные соответствовали нормальным значениям, то есть дети, не имевшие патологии ЦНС, смогли восстановить гематологические показатели до уровня нормы в позднем неонатальном периоде. Проведенный анализ возможной зависимости показателей НСБ от различных значений гемоглобина крови не показал значимых различий в уровнях GFAP и NSE. Полученные данные указывают на сохранение у детей 1 группы анемического синдрома в позднем неонатальном периоде, на отсутствие взаимосвязи анемии с метаболическими изменениями в головном мозге и неврологической симптоматикой и позволяют считать, что анемия не вносит свой вклад в гипоксическое поражение мозга у новорожденных детей.

Таким образом, проведенное исследование позволило выявить, что высокие показатели NSE и GFAP у новорожденных с церебральной ишемией свидетельствуют о ведущей роли гипоксии в возникновении и тяжести поражения мозга у новорожденных детей, но анемический синдром при этом не оказывает существенного отрицательного воздействия на глубину поражения мозга. Наибольшая значимость в диагностике церебральной ишемии в раннем неонатальном периоде принадлежит NSE, что позволит использовать данный показатель для диагностики заболевания сразу после рождения, еще до развертывания неврологической симптоматики и

своевременного назначения патогенетически обоснованной терапии. В позднем неонатальном периоде диагностическую значимость приобретает уровень GFAP, более глубокое поражение мозга сопровождается повышением данного нейроспецифического белка не только в ранний неонатальный период, но и сохраняются на фоне выраженной неврологической симптоматики в течение всего периода новорожденности.

METABOLIC DISTURBANCES IN THE NEWBORN BRAIN WITH CEREBRAL ISCHEMIA AND ANEMIA SYNDROME

L.N. Karpova, T.E. Taranushenko, A.B. Salmina, S.I. Ustinova

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky
Krasnoyarsk Regional Children Hospital

Abstract. The paper presents complex study of neuron specific enolase (NSE) and glial fibrillary protein (GFAP) in newborn with cerebral ischemia with anemia syndrome. We revealed strong relation among NSE and GFAP contents in blood and severity of cerebral disturbances expression in newborn. However there were no significant differences in the levels of NSE and GFAP in children with different hemoglobin levels. This finding indicates that anemia does not influence cerebral pathology severity in newborns with cerebral ischemia.

Key words: newborns, cerebral ischemia, neuron specific enolase, glial fibrillary protein, anemia

Литература

1. Барашнев Ю.И. Перинатальная неврология. – М.: Триада Х, 2001. – 640 с.
2. Володин Н.Н. Неонатология / Национальное руководство. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2007. – 848 с.
3. Володин Н.Н., Рогаткин С.О., Медведев М.И. Актуальные проблемы перинатальной неврологии на современном этапе // Журн. неврологии и психиатрии. – 2001. – № 7. – С. 4-9.

4. Володин Н.Н. Перинатальная медицина: проблемы, пути и условия их решения // Педиатрия. – 2004. – №5. – С. 18-23.
5. Пальчик А.Б. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. – 2-е изд. – М.: «МЕДпресс-информ», 2006. – 256с.
6. Рогаткин С.О., Володин О.И., Гурина О.И. Перспективы иммунохимического определения нейроспецифических белков для диагностики перинатальных поражений центральной нервной системы у новорожденных // Педиатрия. – 2001. – № 4. – С. 35-42.
7. Шабалов Н.П. Неонатология / Учебное пособие в 2 т. – Т. I. – 4 изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2006. – 656 с.
8. Чехонин В.П., Лебедев Д.В. Патогенетическая роль нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера для нейроспецифических белков при перинатальных гипоксически-ишемических поражениях центральной нервной системы у новорожденных // Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 50-61.
9. Abbot N.I., Ronnback L., Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions in the blood-brain barrier // Nature Rev. Neurosci. – 2006. – Vol. 7. – P. 41-53.
10. Kasischke K.A., Vishwasrao H.D., Fisher P.J. et al. A model of indispensability of a large glial layer in cerebrovascular circulation // Science. – 2004. – Vol. 305. – P. 99-103.