

© О. В. Ковальчук–Ковалевская¹,
В. М. Прокопенко¹, А. В. Вьюшина²

¹ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН

² Институт физиологии им. И. П. Павлова
РАН, Санкт-Петербург

НАРУШЕНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ ФУНКЦИЙ ЦНС У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ (МЕХАНИЗМЫ И ПОСЛЕДСТВИЯ)

УДК: 616-053.3:612.8:618.33-007.12]-07

■ Показано, что у новорожденных, с задержкой внутриутробного развития имеется нарушение формирования функций нервной системы, в основе которого лежит свободно-радикальное повреждение клеток мозга.

■ **Ключевые слова:** гипоксия; перекисное окисление липидов; окислительная модификация белков; новорожденный; задержка внутриутробного развития.

Введение

В последние годы наблюдается увеличение частоты болезней нервной системы у детей, от легких функциональных нарушений до выраженных, инвалидизирующих состояний, истоки которых кроются в патологии перинатального периода развития [1, 4, 19]. Наиболее высока частота неблагоприятных последствий перинатальных поражений центральной нервной системы (ЦНС) у детей, имеющих задержку внутриутробного развития (ЗВУР), обусловленную хронической плацентарной недостаточностью, при которой плод испытывает хроническую гипоксию [5, 10, 18]. В этих условиях, возникает активация процессов свободнорадикального окисления и, при истощении антиокислительной защиты, происходит повреждение белков, нуклеиновых кислот, ферментов, биомембран, что в конечном итоге приводит к развитию патологических состояний [8, 9, 15, 6, 13]. В связи с этим актуальной проблемой является изучение у новорожденных детей с ЗВУР состояния системы свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в сопоставлении с особенностями становления функций ЦНС в раннем постнатальном периоде с целью разработки адекватных подходов к ранней коррекции нарушений.

Материалы и методы

Обследовано 104 новорожденных, родившихся в НИИ АГ им. Д. О. Отта в период с 2005 по 2009 гг. Основную группу составили 54 ребенка с ЗВУР, внутриутробное развитие которых протекало в условиях хронической гипоксии вследствие наличия хронической субкомпенсированной плацентарной недостаточности. Характер и степень ЗВУР определяли согласно общепринятой классификации с помощью центильных таблиц (Дементьева Г. М., 1981). Выделяли асимметричную форму ЗВУР — гипотрофию I–II степени — отставание массы тела от должной <10%, но >3%, гипотрофию III степени — отставание массы тела от должной <3%, и наиболее тяжелую симметричную форму ЗВУР — отставание массы тела и роста от должных величин с <3%. ЗВУР I–II степени отмечалась у 11 детей, масса тела которых составила $2425,8 \pm 68,3$ г, длина тела $48,0 \pm 0,6$ см. Тяжелые формы ЗВУР (гипотрофия III степени и симметричная форма) — у 29 детей, масса тела которых составила $2200,6 \pm 80,0$ г, длина тела — $46,0 \pm 0,6$ см. Диспластический вариант ЗВУР в исследование не включен.

В контрольную группу вошли 50 здоровых доношенных новорожденных детей, внутриутробное развитие и рождение которых протекало без особенностей. Их масса тела составила $3305,5 \pm 65,9$ г, длина — $50,6 \pm 0,3$ см. Оценка по шкале Апгар 7–9 баллов. Состояние в раннем неонатальном периоде было удовлетворительное.

Клиническое состояние новорожденных детей оценивали в динамике в сопоставлении с результатами лабораторных и ин-

Таблица 1

Показатели процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), антирадикальной (АРА) и общей антиокислительной (ОАА) активности в плазме крови в первый день жизни у детей, перенесших гипоксию

| Группы | Показатели | ПОЛ, отн. ед | ОАА, отн. ед | АРА, отн. ед |
|--|------------|--------------|--------------|---------------|
| Дети, перенесшие хроническую гипоксию (ХГ), n=54 | | 9,98±0,01 | 0,257±0,013* | 870,47±23,30* |
| Здоровые дети, n=50 | | 10,5±0,6 | 0,223±0,010 | 945,0±19,1 |

Примечание: величины показателей даны в относительных единицах; достоверность различий с показателями у детей контрольной группы: * — p<0,05, ** — p<0,01, *** — p<0,001.

струментальных методов исследований. При постановке окончательного диагноза кроме клинических и лабораторных данных учитывали результаты гистологического исследования послета, нейросонографии (НСГ), эхокардиографии (ЭхоКГ) и рентгенографических исследований.

Для оценки соответствия гестационному возрасту постурального, пассивного и активного тонуса, а также рефлекторных реакций использовали таблицы С. Amiel-Tisson (1974) и S. A. Dargassies (1974). Выделяли равномерное отставание формирования функций ЦНС и диссоциированную задержку развития, когда формирование рудиментарных безусловных рефлексов отстает в большей степени, чем развитие постурального, пассивного и активного тонуса.

Учитывая недоступность исследования нейронов в клинической практике, сходство нейронов по многим своим характеристикам с тромбоцитами экстрацеребральной моделью нейрона был выбран тромбоцит [3, 21, 22, 23].

Для определения интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), общей антиокислительной активности (ОАА) и антирадикальной активности (АРА) забор крови из периферической вены в количестве 1,0 мл осуществляли в первый день жизни. Интенсивность процессов ПОЛ, ОАА в плазме крови и тромбоцитах определяли методом хемилюминисцентного диализа. Регистрацию свечения осуществляли на люминометре БХЛ-06-М (Нижний Новгород, Россия). Измерение АРА сыворотки крови осуществляли на спектрофотометре "Beckman DU-65" (Beckman, США).

Для определения продуктов окислительной модификации белка (ОМБ) в сыворотке крови, у всех детей производили забор крови из вены пуповины в количестве 2,0 мл, а у их матерей из кубитальной вены в количестве 2,0 мл сразу после рождения ребенка. Количественное определение продуктов ОМБ проводили методом Reznick A. Z., Parker L. (1994) в модификации Дубининой Е. Е. и др. (1995). Продукты ОМБ регистрировали при следующих длинах волн: 270 нм, 363 нм.

Статистическая обработка материала проведена с помощью стандартного приложения при-

кладных программ «Statistica». Достоверность различий между средними величинами параметров определяли с помощью t-критерия Стьюдента, а для независимых выборок использовали критерий U (непараметрический критерий Вилкоксона–Манна–Уитни).

Результаты и их обсуждение

Результаты наших исследований показали, что в первые сутки после рождения у детей, перенесших хроническую гипоксию, ПОЛ плазмы крови не отличается от такового у здоровых доношенных детей. При этом АРА плазмы крови снижена, а ОАА, напротив, повышена (табл. 1).

Независимо от длительности и тяжести внутриутробного страдания плода при хронической плацентарной недостаточности показатели ПОЛ плазмы крови остаются в пределах нормальных значений. В то же время при тяжелых формах ЗВУР (у детей с гипотрофией III и симметричной формой ЗВУР) выявлено наибольшее снижение АРА и возрастание ОАА (табл. 2). Анализ индивидуальных показателей не выявил корреляционных связей между интенсивностью ПОЛ, АРА и ОАА.

Известно, окислительная модификация белков и уровень тиолов являются ранними маркерами окислительного стресса и внутриклеточными индикаторами повреждения тканей при свободнорадикальной патологии [9]. Установлено, что у детей с задержкой внутриутробного развития показатели спонтанной ОМБ на стадии инициации и элонгации процесса в два раза превышают таковые у здоровых новорожденных. Обнаруженная тенденция к более высоким показателям спонтанной ОМБ у детей с ЗВУР на фоне нормальных показателей ПОЛ указывает на более интенсивное участие в окислительных процессах белков, которые в силу особенностей их строения являются одним из основных ловушек активных форм кислорода [9].

Уровень восстановленных тиолов в крови у новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития ниже, чем у здоровых новорожденных детей (0,270±0,05 мкМ/л против 0,433±0,025 мкМ/л, p<0,01)

Известно, что тиолы занимают особое место среди тканевых антиоксидантов благодаря их спо-

Таблица 2

Показатели процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), антирадикальной (АРА) и общей антиокислительной (ОАА) активности в плазме крови в первый день жизни у детей с различной степенью задержки внутриутробного развития (ЗВУР)

| Группы | Показатели | ПОЛ, отн. ед | ОАА, отн. ед | АРА, отн. ед |
|---|------------|--------------|--------------|---------------|
| ЗВУР I–II ст, асимметричная форма, n=11 | | 9,4±1,3 | 0,221±0,02 | 938,6±33,3 |
| ЗВУР III ст, асимметричная и симметричная форма, n=29 | | 10,0±0,1 | 0,296±0,03* | 845,9±16,0*** |
| Здоровые дети n=50 | | 10,5±0,6 | 0,223±0,01 | 945,0±19,1 |

Примечание: величины показателей даны в относительных единицах; достоверность различий с показателями у детей контрольной группы: p<0,05 — *, p<0,001 — ***.

Таблица 3

Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ), общей антиокислительной (ОАА) активности тромбоцитов у новорожденных с ЗВУР

| | ПОЛ, отн. ед/10 ⁶ тромбоцитов | ОАА отн. ед |
|-----------------------------------|--|--------------------|
| Дети с ЗВУР, n=20 | 1,615±0,05***, n=20 | 0,141±0,03**, n=19 |
| Здоровые новорожденные дети, n=22 | 0,546±0,09, n=19 | 0,223±0,02, n=19 |

Примечание: величины показателей даны в относительных единицах; достоверность различий с показателями у детей контрольной группы: p<0,05 — *, p<0,01 — **, p<0,001 — ***.

способности проявлять как антирадикальное, так и антиперекисное действие. Уровень тиолов отражает общий молекулярный механизм повреждения клетки — окислительную модификацию белка и изменения его структуры и функций [9].

Таким образом, выявленные нами изменения, свидетельствующие о дисбалансе между прооксидантной и антиоксидантной системами, влекут за собой биохимические изменения на уровне клеточных мембран. Известно, что наиболее благоприятные условия для развития процессов свободнорадикального окисления существуют в ЦНС, поскольку нервная ткань наиболее чувствительна к такому дисбалансу в силу своих биохимических и функциональных особенностей [7, 11].

Результаты исследований (табл. 3) показали, что в тромбоцитах новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития в первые часы после рождения имеется дисбаланс системы СРО/АОЗ. Интенсивность ПОЛ в тромбоцитах детей с задержкой внутриутробного развития достоверно выше, чем в тромбоцитах здоровых новорожденных детей, при этом общая антиокислительная активность снижена.

Сопоставление полученных данных с клиническим состоянием детей с ЗВУР в период ранней постнатальной адаптации показало, что у всех детей на первый план в клинической картине выступала неврологическая симптоматика. Наблюдался синдром угнетения функций ЦНС (снижение мышечного тонуса и физиологических рефлексов), который сочетался с длительно сохраняющейся (по данным НСГ) гиперэхогенностью перивентрикулярных зон боковых

желудочков мозга. Отставание формирования активного, пассивного, постурального тонуса и рефлекторных реакций ЦНС отмечалось у всех детей. Только у этих детей выявлено диссоциированное отставание развития функций ЦНС, когда формирование рудиментарных безусловных рефлексов задерживается в большей степени, чем развитие тонических реакций. Известно, что диссоциированное отставание развития функций ЦНС коррелирует с нарушениями формирования циклической организации сна и ведет к значительной задержке психомоторного развития, что требует продолжительного комплексного лечения на первом году жизни. Эта форма патологии является показателем раннего длительного страдания ребенка в период внутриутробного развития [17].

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о токсическом действии АФК на клетки в условиях длительной хронической внутриутробной гипоксии, сопровождающейся интенсификацией свободно-радикальных процессов и снижением активности системы антиокислительной защиты, нарушением ее мобилизации в ответ на повышение активности прооксидантной системы. Это согласуется с данными литературы о снижении активности супероксиддисмутазы в тромбоцитах у новорожденных с последствиями хронической гипоксии в раннем неонатальном периоде, что свидетельствует об истощении резервов компенсации [13]. Интенсивность процессов перекисидации рассматривают как показатель деструкции клеточных мембран, а состоятельность антиокислитель-

ной защиты (АОЗ) как свидетельство клеточной адаптации к стрессовым воздействиям [9, 16, 14]. Наши исследования указывают на дестабилизацию мембран в результате хронической гипоксии. В литературе имеются данные об угнетении при хронической гипоксии в тромбоцитах новорожденных активности всех ферментов трансмембранного транспорта (Na^+ , K^+ -АТФазы, Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы), что способствует увеличенному току ионов кальция внутрь клетки [13] и неконтролируемому каскаду Ca^{2+} -зависимых реакций (активация протеолитических ферментов, липаз, эндонуклеаз, NO-синтазы). Происходит активация лизосомальных ферментов, что приводит к интенсивному разрушению клеток. Считается, что интенсивный распад фосфолипидов клеточных мембран является ранним признаком развивающейся нейродегенерации [20]. Генерация активных форм кислорода является причиной нарушения митохондриального энергетического метаболизма, приводящего к увеличению гибели нейронов [7].

Полученные результаты указывают на необходимость применения в раннем неонатальном периоде лекарственных препаратов сочетающих антиоксидантное и нейропротекторное действие.

Литература

1. *Бараинев Ю. И.* Перинатальная неврология. — М.: Триада-Х, 2001. — 640 с.
2. *Бурмистров С. О., Дубинина Е. Е., Арутюнян Е. В.* Перекисное окисление липидов, белков и активность антиоксидантной системы сыворотки крови новорожденных и взрослых // *Акушерство и гинекология.* — 1997. — № 6. — С. 36–40.
3. Влияние нимодипина на внутриклеточный уровень кальция и агрегацию тромбоцитов у больных ишемическим инсультом / *Пряникова Н. А.* [и др.] // *Бюл. Экспер. Биол. и мед.* — 1996. — № 3. — Р. 317–320.
4. *Володин Н. Н., Рогаткин С. О., Медведев М. И.* Актуальные проблемы перинатальной неврологии на современном этапе // *Журнал неврологии и психиатрии.* — 2001. — Т. 101, № 7. — С. 4–9.
5. *Гармашева Н. Л.* Введение в перинатальную медицину. — М.: Медицина, 1978. — 296 с.
6. Диагностика гипоксии плода по данным показателей перекисного окисления липидов и антиокислительной активности / *Мусаев А. Т.* [и др.] // *Педиатрия.* — 1991. — № 12. — С. 88.
7. *Дубинина Е. Е.* Роль окислительного стресса при патологических состояниях нервной системы // *Успехи функциональной нейрохимии.* — СПб.: Изд-во СПбГУ, 2003. — С. 285–301.
8. *Дубинина Е. Е., Раменская Н. П., Софронова Л. Н.* Особенности антиокислительной системы крови у новорожденных с асфиксией // *Педиатрия.* — 1986. — № 5. — С. 75.
9. *Дубинина Е. Е.* Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и биохимические аспекты. — СПб.: Изд-во Мед. пресса, 2006. — 400 с.
10. *Евсеев Д. А., Ещенко Ю. В.* Изменения в фетоплацентарном комплексе при острой и хронической внутриутробной гипоксии // *Педиатрия.* — 2002. — № 1. — С. 5–9.
11. *Зозуля Ю. А., Барабой В. А., Сутковой Д. А.* Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. — М.: Знание-М, 2000. — 344 с.
12. *Пасенюк Т. А.* Клиническое значение фосфолипидного спектра, перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у новорожденных с перинатальным поражением нервной системы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Одесса, 1988. — 22 с.
13. Роль структурно-функциональных нарушений клеточных мембран в клинико-патогенетических проявлениях перинатальной гипоксии у новорожденных, пути коррекции / *Петрушина А. Д.* [и др.] // *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* — 2000. — № 1. — С. 22–23.
14. Свободнорадикальное окисление и механизмы клеточной адаптации у новорожденных / *Камилов Ф. Х.* [и др.] // *Здравоохранение Башкортостана.* — 1999. — № 3. — С. 94–98.
15. Свободнорадикальное окисление у доношенных новорожденных детей с различной патологией / *Евсюкова И. И.* [и др.] // *Педиатрия.* — 1996. — № 1. — С. 13–16.
16. Состояние перекисного окисления липидов и антиокислительной системы у новорожденных / *Забродина Л. В.* [и др.] // *Педиатрия.* — 1992. — № 2. — С. 34–37.
17. *Фоменко Б. А.* Влияние условий внутриутробного развития на формирование перинатальной патологии ЦНС у доношенных детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб., 1995. — 19 с.
18. *Ширяева Т. Ю., Логачев М. Ф., Розанова Г. Н.* Современные представления о задержке внутриутробного развития // *Лекции по актуальным проблемам педиатрии* / ред. В. Ф. Демин, С. О. Ключников. — М.: РГМУ, 2000. — С. 167–174.
19. *Яцък Г. В., Бомбардирова Е. П.* Состояние здоровья детей первого года жизни в России // *Права ребенка.* — 2004. — № 1. — С. 42–43.
20. *Farooqui A. A., Ong W. Y., Horrocks L. A.* Biochemical aspects of neurodegeneration in human brain: involvement of neural membrane phospholipids and phospholipases A2 // *Neurochem. Res.* — 2004. — Vol. 29, № 1. — P. 1961–1977.
21. *Langer S. Z., Glazin A. M.* Studies on the serotonin transporters in platelets // *Experientia.* — 1988. — Vol. 44. — P. 127–131.
22. *Muscettola G., Di Lauro A., Giannini C. P.* Blood cells as biological trait markers in affective disorders // *J. Psychiatr. Res.* — 1984. — Vol. 18. — P. 447–456.
23. *Stahl S. M.* Platelets as pharmacological models for the receptors and biochemistry of monoaminergic neurons the platelets // *Physiology and Pharmacology* / ed. G. L. Longenesker. — N.-Y.: Academic Press, 1985. — P. 308–334.

DELAY OF FUNCTIONS CNS AT NEWBORNS
WITH INTRAUTERINE GROWTH RETARDATION

Kovalchuk-Kovalevskaya O. V., Prokopenko V. M.,
Vyushina A. V.

■ **Summary:** According to actual evidence, the newborns with intrauterine growth retardation (IUGR) suffer from nervous system dysfunction because of brain cells damage cause by free-radicals.

■ **Key words:** hypoxia; lipid peroxidation; free radicals oxidation of protein; newborn; intrauterine growth retardation.

■ **Адреса авторов для переписки**

Ковальчук-Ковалевская Ольга Владимировна — к. м. н., с. н. с. отделения физиологии и патологии новорожденных детей.

НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Санкт-Петербург, Менделеевская л., д. 3.

E-mail: kovkolga@yandex.ru.

Прокопенко Валентина Михайловна — к. б. н., с. н. с. лаборатории биохимии.

НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Санкт-Петербург, Менделеевская л., д. 3.

E-mail: vmp47@mail.ru.

Вьюшина Анна Вадимовна — к. м. н.

Институт Физиологии им. И. П. Павлова.
199034, наб. Макарова, д. 6, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: sts@infran.ru.

Kovalchuk-Kovalevskaya Olga Vladimirovna — PhD, Department of Physiology and Pathology of newborns.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Northwest Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.

3 Mendeleyevskaya Line, 199034, St. Petersburg, Russia.

E-mail: kovkolga@yandex.ru.

Prokopenko Valentina Mikhailovna — PhD, lab of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Northwest Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.

3 Mendeleyevskaya Line, 199034, St. Petersburg, Russia.

E-mail: vmp47@mail.ru.

Vyushina Anna Vadimovna — PhD.

Pavlov Institute of physiology RAS.

Nab. Makarova, 6, 119034, Russia St.-Petersburg.

E-mail: sts@infran.ru.