

Е.Г. Новопольцева¹, В.А. Воробьева¹, О.Б. Овсянникова¹, Е.Н. Соловьева¹, Ю.Г. Кузьмичев¹,
Л.Г. Шипова¹, О.В. Крылова², И.Ю. Коробкова³, Т.Ю. Костарева²

¹ Нижегородская государственная медицинская академия

² Нижегородская областная детская клиническая больница

³ ООО «Нутриция»

Нейроспецифическая енолаза в диагностике перинатальных поражений центральной нервной системы у недоношенных детей

Контактная информация:

Новопольцева Екатерина Геннадьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии и неонатологии факультета повышения квалификации врачей Нижегородской государственной медицинской академии

Адрес: 603000, Нижний Новгород, пл. Минина, д. 10/1, тел.: (831) 467-12-42

Статья поступила: 26.02.2010 г., принята к печати: 27.04.2010 г.

66

Нейроспецифическая енолаза — внутриклеточный фермент центральной нервной системы (ЦНС), присутствующий в нейронах головного мозга и периферической нервной ткани. Это единственно известный в настоящее время общий маркер всех дифференцированных нейронов. В статье приведены результаты определения данного фермента у недоношенных детей с внутриутробными инфекциями и оценка его значения как маркера повреждения ЦНС у этого контингента детей. Высокий уровень нейроспецифической енолазы у детей с инфекционно-воспалительными заболеваниями является не только маркером повреждения гематоэнцефалического барьера, но и отражает характер повреждения (гипоксия, интоксикация, воспаление). У недоношенных новорожденных с различной патологией данный показатель может служить критерием тяжести перинатальных повреждений и наряду с другими показателями определять тактику проводимой терапии.

Ключевые слова: нейроспецифическая енолаза, маркер повреждения ЦНС, перинатальные повреждения, дети.

Нейроспецифические белки являются структурными компонентами нервных клеток и выполняют ряд важнейших функций: ферментативную, рецепторную, регуляторную, транспортную и др. Возникновение повышенной проницаемости гематоэнцефалического барьера

(ГЭБ) при разнообразных повреждениях нервной ткани (гипоксически-ишемического, травматического, инфекционного генеза) приводит к поступлению нейроспецифических белков в кровь. В качестве маркеров проницаемости ГЭБ в диагностических целях используются

E.G. Novopoltseva¹, V.A. Vorobieva¹, O.B. Ovsyannikova¹, E.N. Solovieva¹, Yu.G. Kuzmichev¹, L.G. Shipova¹,
O.V. Krylova², I.Yu. Korobkova³, T.Yu. Kostaryova²

¹ State Educational Institution of Higher Professional Institution Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod

² State Institution Nizhny Novgorod Regional Children's Clinical Hospital

³ ООО Nutricia

Neurospecific enolase in diagnostics for perinatal damage to the central nervous system in premature infants

Neurospecific enolase is an endoenzyme of the central nervous system (CNS) present in neurons of the brain and peripheral neural tissue. This is currently the only known general marker of all differentiated neurons. The article illustrates the results of determining this enzyme in premature infants with fetal infections and assessment of their importance as a marker of damage to CNS in this group of children. A high level of neurospecific enolase in children with infectious and inflammatory diseases is not only the marker of damage to blood-brain barrier, but also reflects the nature of damage (hypoxia, intoxication, inflammation). This parameter in premature infants with various pathologies may serve as a degree of perinatal damage severity, and along with other parameters, determine the performed therapy tactics.

Key words: neurospecific enolase, marker of CNS damage, perinatal damage, children.



основной белок миеллина, нейроспецифическая енолаза (HCE) — белок дифференцированных нейронов, катализирующий превращение 2-фосфоглицерата в фосфоенолпирuvat. Нейроспецифическая енолаза — внутриклеточный фермент центральной нервной системы, присутствующий в клетках нейроэктодермального происхождения (нейронах головного мозга и периферической нервной ткани), является нейроспецифическим маркером. Это единственный известный в настоящее время общий маркер всех дифференцированных нейронов. При болезнях, сопряженных с непосредственным вовлечением нервной ткани в патологический процесс, качественные и количественные определения этого белка в спинномозговой жидкости или сыворотке крови дают ценную информацию о степени выраженности повреждений нейронов и нарушениях общей целостности гематоэнцефалического барьера, что характеризует степень постишемического повреждения мозга [1–6]. Количественное определение HCE у недоношенных детей представляется особенно актуальным, ввиду сложностей диагностики поврежденной нервной системы, связанных с незрелостью, высоким риском внутриутробных инфекций, течение которых часто «маскируется» общей мозговой симптоматикой. Целью исследования стало определение уровня нейроспецифической енолазы в сыворотке крови у недоношенных детей с внутриутробными инфекциями и оценка его значения как маркера повреждения ЦНС у этого контингента пациентов.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано две группы недоношенных новорожденных детей. Первая группа (основная, $n = 25$) — недоношенные дети с манифестными формами внутриутробных инфекций (ВУИ), подтвержденными лабораторными исследованиями полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуноферментным анализом (ИФА). Вторая группа (сравнения, $n = 16$) — недоношенные новорожденные без клинико-лабораторных признаков ВУИ. Дети обеих групп были сопоставимы по гестационному возрасту, полу, массе. Средний гестационный возраст в первой группе составил $30,6 \pm 0,6$ недель, во второй группе — $31,5 \pm 0,7$ недель. Масса тела у недоношенных с подтвержденными внутриутробными инфекциями — $1459,0 \pm 91,3$ г, у недоношенных без ВУИ — $1842,0 \pm 126,3$ г.

Большинство детей обеих групп находились на естественном вскармливании. 44% детей первой группы и 37,5% детей второй группы находились на смешанном или искусственном вскармливании, в зависимости от наличия молока у матерей. Для искусственного вскармливания использовались специализированные молочные смеси Нутрилон Пепти ТСЦ, смеси для недоношенных детей Пре Нутрилон (Нутриция, Голландия) с пребиотиками Иммунофортис, что способствует оптимальной постнатальной адаптации ЖКТ и гармонизации дальнейшего физического развития. При достижении детьми массы тела 1800 г использовалось сочетание смеси Пре Нутрилон с адаптированной молочной смесью Нутрилон 1 (Нутриция, Голландия).

Все пациенты были обследованы согласно стандартам ведения недоношенных детей. Уровень HCE в крови определяли на 5–7-е сутки в остром периоде болезни (при поступлении в отделение реанимации и интенсивной терапии или отделение патологии новорожденных) и в динамике на 25–28-е сутки жизни (ко времени завершения неонатального периода). Для сравнительной оценки полученных результатов использованы показатели здоровых доношенных новорожденных [2, 3, 7, 8]. Сывороточную концентрацию HCE определяли количественным методом

при помощи «сэндвич»-варианта ИФА (A. Voller и соавт., 1976) на основе моноклональных антител в модификации, разработанной в отделе фундаментальной и прикладной нейробиологии Государственного научного центра социальной и судебной психиатрии им. В. П. Сербского. Набор для определения HCE разработан для использования сыворотки крови. Забор крови производили из периферической вены в объеме 0,5–1,0 мл, а отделение сыворотки — стандартной процедурой в течение 60 мин после сбора образцов, чтобы избежать выхода HCE из клеток крови и исключения ложноположительных результатов.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлена с использованием пакета программ BIOSTAT, Microsoft Office Excel 2003 методами параметрической и непараметрической статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Следует отметить, что акушерский анамнез матерей обследуемых групп был в значительной степени отягощенным. Выявлена высокая частота самопроизвольных выкидышей в I и II группах (28 и 37,5%, соответственно), наличие медицинских аборт в анамнезе (48% в I и 50% во II группах). Угроза прерывания настоящей беременности отмечалась у 21 (84%) матери I группы и у 6 (37,5%) матерей группы сравнения. В первой группе четверо детей родились в результате экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Различные осложнения и заболевания во время настоящей беременности, включая развитие острых и обострения хронических инфекций, в том числе мочеполовой системы, наблюдались у матерей обеих групп (28 и 37,5%, соответственно).

У детей I группы с клиническими проявлениями ВУИ были диагностированы: пневмония — у 7 (28%) пациентов, менингит/менингоэнцефалит — у 3 (12%), энтероколит — у 2 (8%), генерализованные формы — у 5 (20%), у остальных детей — неспецифические клинические проявления инфекций, которые сопровождались лабораторными маркерами ВУИ. Тяжесть состояния в раннем неонатальном периоде у новорожденных определялась сочетанием дыхательной недостаточности, нарушениями системной гемодинамики и наличием сочетанного поражения ЦНС, патогенетически обусловленного гипоксией, ишемией, интоксикацией и инфекционным поражением на фоне морфофункциональной незрелости. У трети детей I группы (32%) имелись проявления кардиопатии, сопровождавшиеся нарушением центральной и периферической гемодинамики. Клинические признаки нарушения сердечной деятельности варьировали от функциональных расстройств до выраженной недостаточности кровообращения. Одним из ведущих патологических синдромов у недоношенных с ВУИ была гипербилирубинемия (табл. 1). Желтушное окрашивание кожи появлялось в 1–2-е сутки жизни. У 68% детей I группы и 56,2% пациентов II группы отмечалось затяжное течение желтухи. Отечный синдром имел место у 44,0% — в I группе, 31,2% — во II группе. Геморрагический синдром у недоношенных с ВУИ наблюдался в 4 раза чаще, чем в группе сравнения. У всех детей основной группы выявлены лабораторные признаки воспалительного процесса со стороны крови: лейкоцитоз, нейтрофилез со сдвигом лейкоцитарной формулы влево в остром периоде, с дальнейшим исходом в нейтропению, ускорение СОЭ, повышение гуморальной активности (С-реактивный белок, гаптоглобин, лактатдегидрогеназа, прокальцитонин тест).

Выявленные патологические синдромы у детей II группы обусловлены перенесенной перинатальной гипоксией, морфофункциональной незрелостью.



Таблица 1. Основные патологические синдромы у детей I и II групп

Патология	Наблюдаемые группы				p
	I группа (n = 25)		II группа (n = 16)		
	абс.	%	абс.	%	
Гастроинтестинальный синдром	25	100,0	5	31,2	0,0001
СДР	22	88,0	13	81,3	0,951
Желтуха	17	68,0	9	56,2	0,957
Анемия	15	60,0	6	37,5	0,155
Отечный синдром	11	44,0	5	31,2	0,604
Постгипоксическая кардиопатия	8	32,0	1	6,2	0,081
Геморрагический синдром	6	24,0	1	6,2	0,194
Лейкоцитоз/лейкопения, сдвиг лейкоцитарной формулы	25	100,0	1	6,2	0,0001

Примечание.

СДР — синдром дыхательных расстройств.

68

Таблица 2. Основные синдромы повреждения ЦНС

Неврологические синдромы	I группа (n = 25)		II группа (n = 16)		p
	абс.	%	абс.	%	
Синдром угнетения ЦНС	23	92,0	10	62,5	0,013
Вегетативно-висцеральные нарушения	18	72,0	10	62,5	0,385
Судорожный синдром	4	16,0	1	6,3	0,461
Внутричерепная гипертензия	3	12,0	1	6,3	0,624
Менингеальный синдром	3	12,0	–	–	0,180
Нейрорефлекторная возбудимость	2	8,0	3	18,8	0,288

В связи с тяжестью состояния и развитием синдромов дезадаптации большинству детей, вошедшим в данное исследование, с рождения проводился комплекс мероприятий интенсивной терапии, включавший искусственную вентиляцию легких ($n = 21$), инфузионную ($n = 41$), антибактериальную и симптоматическую терапию ($n = 41$). За всеми пациентами, находившимися в отделении реанимации, проводился круглосуточный мониторинг с регистрацией ЧСС, АД, сатурации кислорода (SO_2). Оценивались показатели суточного диуреза и динамика весовой кривой.

Этиологически значимыми возбудителями внутриутробных инфекций у детей первой группы ($n = 25$) были *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* у 5 (20%) новорожденных, *Chlamydia trachomatis* — у 2 (8%) новорожденных, *Cytomegalovirus hominis* — у 3 (12%) детей, из них микст-инфекции диагностированы у 5 (20%) новорожденных; у остальных недоношенных заболевание было обусловлено условно-патогенной флорой (*Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii*, грибами рода *Candida*).

При рождении в анамнезе у недоношенных обеих групп отмечались симптомы церебральной ишемии II–III степени, обусловленной интра- и антенатальной гипоксией (табл. 2).

При нейросонографических исследованиях выявлены признаки гипоксии, ишемии головного мозга. Пери-/интравентрикулярные кровоизлияния 2–3 степени в 3,5 раза чаще встречались у детей I группы ($n = 7$), чем у новорожденных группы сравнения ($n = 2$). Перивентрикулярная лейкомаляция при нейросонографии обнаружена у 1 ребенка в I группе и у одного ребенка во II. Постановка неврологического диагноза проводилась согласно «Классификации перинатальных поражений нервной системы у новорожденных» [7]. У большинства детей первой группы в неврологическом статусе преобладали синдром угнетения (92 и 62,5%, соответственно) и проявления вегето-висцеральных нарушений (72 и 62,5%, соответственно; $p < 0,05$), что у детей с ВУИ обусловлено не только незрелостью нервной системы, но и интоксикацией, связанной с течением инфекционно-воспалительного заболевания.

Для оценки степени повреждения ЦНС наряду со стандартными клинико-инструментальными методами обследования определяли уровень нейроспецифической енолазы в сыворотке крови. У недоношенных новорожденных с ВУИ уровень НСЕ на 5–7 сутки жизни составил $80,7 \pm 8,1$ нг/мл, у новорожденных детей без ВУИ — $57,9 \pm 12,4$ нг/мл ($p < 0,05$), средний уровень



Не все молочные смеси одинаковые

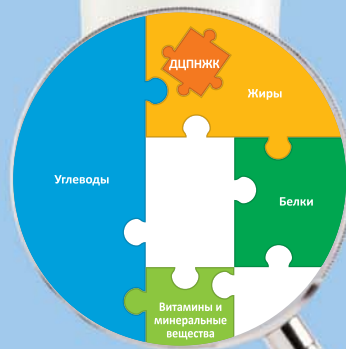
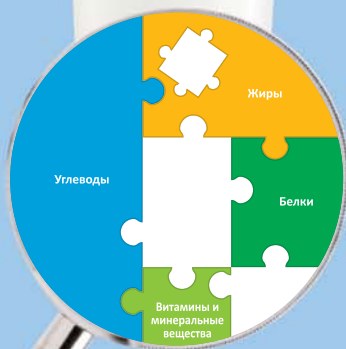


Грудное
молоко**

Nutrilon®
с IMMUNOFORTIS®



Молочная смесь
без пребиотиков
и без длинноцепочечных
полиненасыщенных
жирных кислот
(ДЦПНЖК)



Молочная смесь
без пребиотиков

Nutrilon®

Существует молоко, которое
укрепляет иммунитет лучше,
чем Nutrilon® — это грудное молоко.

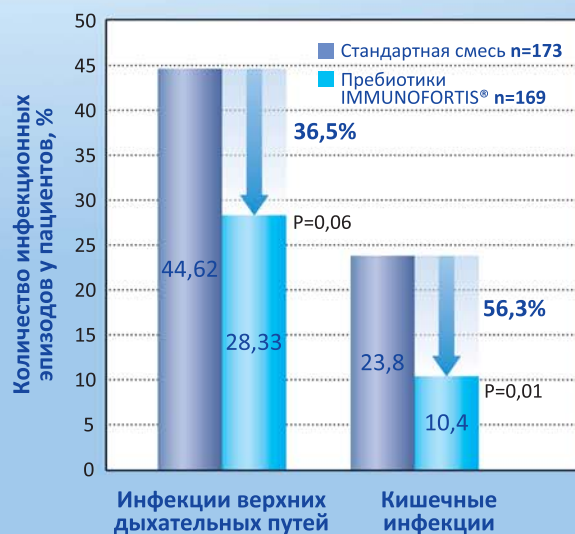
Общеизвестно, что грудное молоко укрепляет иммунитет ребенка и защищает от инфекций. Nutrilon® с пребиотиками IMMUNOFORTIS® защищает ребенка от кишечных инфекций и инфекций верхних дыхательных путей эффективнее, чем стандартные молочные смеси.* Подтверждено клиническими исследованиями.

* В сравнении с молочными смесями без ДЦПНЖК и пребиотиков

** Состав грудного молока приводится по:

1. Nutrition of Normal infants, ed. by Fomon S., - Mosby, 1993, 420 p.
2. Boehm G. Oligosaccharides from milk, J.Nutr. 2007; 137: 847-849

Уровень инфекционной заболеваемости
в зависимости от вида используемой смеси
(в течение 1-ого года жизни)



Bruzzese E., Volpicelli M., Squeglia V. et al. A formula containing galacto- and fructooligosaccharides prevents intestinal and... Clin Nutr. 2009 Apr;28(2):156-61. Epub 2009 Feb 23.

Сухая адаптированная молочная смесь Nutrilon® 1. Для питания детей с рождения.

Для питания детей раннего возраста предпочтительнее грудное вскармливание. Врачу следует объяснить матери преимущества грудного вскармливания, обучить способам сохранения лактации, а также предупредить, что перед применением смеси необходимо проконсультироваться с врачом.

Только для работников системы здравоохранения

NmP67/03.10



Рис. 1. Уровень нейроспецифической енолазы в сыворотке крови в зависимости от гестационного возраста детей

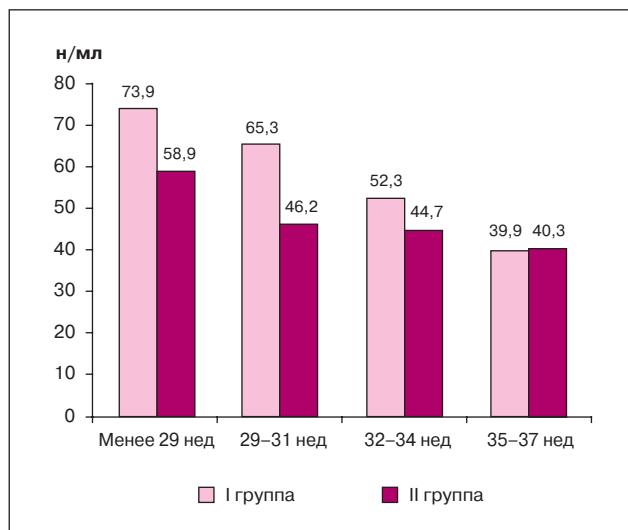
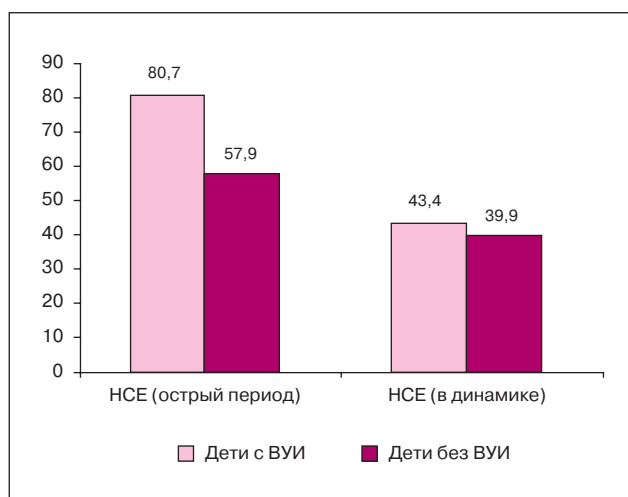


Рис. 2. Динамика уровня нейроспецифической енолазы в сыворотке крови обследуемых детей



Примечание.

ВУИ — внутриутробная инфекция;

НСЕ — нейроспецифическая енолаза.

данного показателя у здоровых доношенных детей находится, по данным различных исследований, в диапазоне от 2,0 до 40,0 нг/мл [2, 6]. Выявленные изменения свидетельствуют о более глубоких повреждениях ГЭБ у детей с инфекционно-воспалительными заболеваниями, что обусловлено не только последствиями перенесенной гипоксии, но и интоксикацией. При исходном определении нейроспецифической енолазы у детей исследуемых групп отмечена зависимость исследуемого показателя от гестационного возраста: чем меньше гестационный возраст, тем более высокие показатели НСЕ, что может свидетельствовать о зависимости проницаемости ГЭБ от степени зрелости структур его образующих (рис. 1), однако достоверной разницы не выявлено ($p > 0,05$).

Наблюдение в динамике (на 25–28 сутки жизни) показало, что у детей обеих групп имело место снижение показателей уровня сывороточной нейроспецифической енолазы (рис. 2). Уровень НСЕ у недоношенных детей с ВУИ к концу первого месяца жизни составил $43,4 \pm 5,0$ нг/мл (во второй группе — $39,9 \pm 5,9$ нг/мл). По данным литературы, содержание НСЕ в сыворотке крови у доношенных детей к концу первого месяца жизни составляет $2,2 \pm 0,4$ нг/мл. Следует отметить, что у детей с инфекционным поражением ЦНС (менингит, менингоэнцефалит) уровень НСЕ был значительно повышен и находился в диапазоне от 115 до 121 нг/мл, оставался высоким при динамическом наблюдении и к концу первого месяца жизни не достигал нормативного уровня. Более медленное снижение НСЕ у детей основной группы обусловлено сочетанным повреждением ГЭБ при инфекционно-воспалительных заболеваниях, а также не исключает наличие процессов апоптоза, что согласуется с данными исследований [1, 9].

Таким образом, наличие высоких показателей нейроспецифической енолазы у недоношенных детей свидетельствует о повреждении ЦНС. Более высокие уровни НСЕ у детей с инфекционно-воспалительными заболеваниями являются не только маркерами повреждения ГЭБ, но и отражают сочетанный, более глубокий характер повреждения (гипоксия, интоксикация, воспаление). Ввиду сложностей дифференциальной диагностики повреждений ЦНС у недоношенных новорожденных с различной патологией данный показатель может служить критерием тяжести перинатальных повреждений и наряду с другими показателями определять тактику проводимой терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барашнев Ю.И. Прогресс перинатальной неврологии и пути снижения детской инвалидности // Педиатрия. — 1994; 5: 91–108.
2. Володин Н.Н. Актуальные проблемы неонатологии. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 448 с.
3. Володин Н.Н., Рогаткин С.О., Турина О.И. Перспективы иммунологического определения нейроспецифических белков для диагностики перинатальных поражений ЦНС у новорожденных // Педиатрия. — 2001; 4: 35–43.
4. Dai H.Q., Luo Y.H. Changes of electroencephalographic background patterns and serum neuron specific enolase levels in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy // Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi. — 2009; 11 (3): 173–6.
5. Hsu A.A., Fenton K., Weinstein S. et al. Neurological injury markers in children with septic shock // Pediatr. Crit. Care Med. — 2008; 9 (3): 245–51.
6. Verdu Perez A., Falero M.P., Arroyos A. et al. Blood neuronal specific enolase in newborns with perinatal asphyxia // Rev. Neurol. — 2001; 32: 714–717.
7. Шабалов Н.П. Неонатология. — Санкт-Петербург, 2006.
8. Ballard J. et al. New Ballard score, expanded include extremely premature infants // J. Pediatr. — 1991; 19 (3): 417–423.
9. Giuseppe D., Sergio C., Pasqua B. et al. Perinatal asphyxia in preterm neonates leads to serum changes in protein S-100 and neuron specific enolase // Curr. Neurovasc. Res. — 2009; 6 (2): 110–6.