

Провоспалительные маркеры при постгипоксических изменениях мозга у новорожденных детей

Г.С.Голосная¹, А.С.Петрухин¹, А.А.Терентьев⁴, Д.И.Албагачиева¹,
Т.М.Красильщикова¹, А.Л.Эрлих², А.Б.Карпенко³, А.Ю.Герасимов³

¹Российский государственный медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра нервных болезней педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой – проф. А.С.Петрухин);

²Городская клиническая больница №7, Москва (главный врач – к.м.н. В.А.Афанасьев);

³Родильный дом №15, Москва (главный врач – А.Ю.Пастарнак);

⁴Российский государственный медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра биохимии педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой – чл.-кор. РАМН, проф. А.А.Терентьев)

В статье рассмотрено влияние неспецифических факторов поражения мозга у новорожденных – провоспалительных цитокинов DR5 и ALCAM. 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 – ВЖК и ПВЛ. Выявлена роль маркера апоптоза, проапоптотического фактора DR5, в патогенезе постгипоксических нарушений у новорожденных. Уровень этого фактора, как и молекулы клеточной адгезии 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, ВЖК, ПВЛ, DR5, ALCAM

Proinflammatory markers in posthypoxic brain changes in newborns

G.S.Golosnaya¹, A.S.Petrukhin¹, A.A.Terentyev⁴, D.I.Albagachieva¹,
T.M.Krasilschikova¹, A.L.Erlikh², A.B.Karpenko³, A.Yu.Gerasimov³

¹N.I.Pirogov Russian State Medical University, Department of Nervous Diseases of Pediatric Faculty, Moscow (Head of the Department – Prof. A.S.Petrukhin);

²Municipal Clinical Hospital № 7, Moscow (Chief Doctor – PhD V.A.Afanasyev);

³Maternity Hospital №15, Moscow (Chief Doctor – A.Yu.Pastarnak);

⁴N.I.Pirogov Russian State Medical University, Department of Biochemistry of Pediatric Faculty, Moscow (Head of the Department – Corr. Member of RAMS, Prof. A.A.Terentyev)

The article deals with the influence of nonspecific factors of brain damage – inflammatory cytokines DR5 and ALCAM. In studying the dynamics of ALCAM, depending on the developed and identified by neurosonography changes in the brain there was found out that the maximum concentration of ALCAM was recorded in infants with combined brain damages – IVH and PVL. The role of apoptosis marker, proapoptotic DR5 factors in the pathogenesis of posthypoxic disorders in newborns was identified. The level of this factor as well as cell adhesion molecule ALCAM correlates with the development of destructive processes and is of great importance for the inhibition of protective factors of nerve cells – neurotrophic and growth factors.

Key words: newborn, hypoxia, perinatal brain injury, IVH, PVL, DR5, ALCAM

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

Поэтому целью нашей работы было изучение сывороточной концентрации индукторов апоптоза: проапоптотического фактора («рецептора смерти» (DR5) и активированной молекулы лейкоцитарной клеточной адгезии (ALCAM) у новорожденных детей с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС.

Пациенты и методы

Под нашим наблюдением находились 120 новорожденных детей с гестационным возрастом от 25 до 42 нед, массой тела при рождении от 890 г до 4630 г. Мальчиков – 78, девочек – 42. Дети были разделены на 4 группы в соответствии с изменениями на нейросонографии: 1-я группа – новорожденные, у которых на НСГ не было выявлено структурных изменений, но отмечалось повышение перивентрикулярной эхогенности, от умеренной до выраженной (30 детей); 2-я группа – новорожденные с перивентрикулярной лейкомаляцией (ПВЛ) (30 детей); 3-я группа – новорожденные с внутрижелудочковыми кровоизлияниями (ВЖК) (30 детей); 4-я группа – новорожденные с сочетанием внутрижелудочкового кровоизлияния и перивентрикулярной лейкомаляции (30 детей).

Контрольная группа (30 новорожденных) была представлена здоровыми доношенными детьми ($n = 15$), а также недоношенными детьми без поражения ЦНС ($n = 15$). Взятие проб крови у детей контрольной группы осуществлялось при проведении необходимых анализов в стационаре по показаниям (биохимические анализы, общий анализ крови).

Определение сывороточного уровня DR5 проводилось однократно в возрасте 24–48 ч жизни, когда регистрируется максимальное количество апоптотических клеток. Уровень DR5 в сыворотке крови исследовали с помощью тест-системы фирмы Biosource (Бельгия). Для определения уровня молекулы клеточной адгезии ALCAM применяли реактивы фирмы R&D (Англия). Пробы крови проводились трижды: в возрасте до 48 ч жизни; на 5–7-е; 12–14-е сутки жизни. Полученную сыворотку в объеме 0,5 мл замораживали и хранили при температуре -20°C не более 2 мес. Принцип всех тест-систем основан на количественном иммуноферментном анализе сэндвичевого типа (ELISA: Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay). Анализ проводился по стандартному протоколу. Ультразвуковое сканирование головного мозга (НСГ) проводилось 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 осуществляли с помощью программы Statistika 5. Для оценки достоверности 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 исследования и их обсуждение

В контрольной группе у новорожденных без поражения ЦНС не было выявлено достоверных различий исследуемых антигенов в зависимости от гестационного возраста, а также времени определения. Нормативные параметры представлены в табл. 1.

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

Концентрация маркера апоптоза DR5 была значительно повышена по сравнению с нормой во всех группах. Но если в 1-й группе уровень DR5 превышал верхнюю границу нормы в 1,2–2 раза, то во 2-й и 3-й группах – в 8,5 раза, а в группе у новорожденных с комбинированным поражением – в 11,5 раза (табл. 2).

Повышение уровня молекулы клеточной адгезии ALCAM у новорожденных со структурными изменениями головного мозга (2-я – 4-я группы) было в 3–6 раз выше, чем у детей без таких изменений.

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 – ВЖК и ПВЛ. У них также отмечались самые низкие темпы снижения антигена, что, возможно, отражает процесс воспаления и тромбообразования в сосудах и связано с большим объемом поражения ткани головного мозга и более длительным течением процессов организации в очаге постгипоксических изменений (табл. 3).

При статистической обработке рассматривались концентрации изучаемых антигенов в сыворотке крови в зависимости от исхода заболевания по критерию «выжил – умер». Был проведен дисперсионный анализ (ANOVA) (табл. 4).

Уровень маркера апоптоза DR5 в сыворотке крови у умерших новорожденных всех групп ($p < 0,01$) был значительно повышен по сравнению с нормативными значениями (от 2,5–3 раз в 1-й группе, в 15 раз в группах у новорожденных с ВЖК и сочетанием ВЖК и ПВЛ). Максимальное повышение проапоптотического фактора регистрировалось у умерших в группе с ПВЛ, уровень превышал верхнюю границу нормы в 18 раз. У выживших новорожденных

Для корреспонденции:

Голосная Галина Станиславовна, доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии педиатрического факультета Российского государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 695-0020
E-mail: ggoslnaya@yandex.ru

Статья поступила 23.06.2009 г., принята к печати 31.03.2010 г.

Таблица 1. Концентрация исследуемых факторов в контрольной группе

Исследуемые факторы	Значения в контрольной группе	
	M $\pm$ SD	min–max
ALCAM, мкг/л	0,036 $\pm$ 0,015	0,018–0,06
DR5, мкг/л	4,1 $\pm$ 0,9	1,2–8,67

только в 1-й группе не было достоверных различий с нормативными показателями ($p > 0,01$), в группах с изменениями на НСГ отмечалось повышение сывороточного уровня DR5 в 7–10 раз ($p < 0,01$).

Сравнивая полученные результаты, следует отметить, что у выживших новорожденных уровень молекулы адгезии ALKAM был ниже, чем у умерших новорожденных. У новорожденных 1-й группы достоверные различия в концентрации выявлялись с 5–7 суток жизни. А в 4-й группе достоверных различий в концентрации антигена не было выявлено.

Данные, характеризующие корреляционные связи между уровнями исследуемых факторов и формированием постгипоксических структурных изменений головного мозга, представлены в табл. 5.

Факторы, определяющие выраженность деструктивного и воспалительного процесса DR5, ALKAM, находились в прямой корреляционной связи с формированием постгипоксических структурных изменений головного мозга у новорожденных.

Необходимо отметить, что концентрация вышеописанных факторов была максимальной у новорожденных с сочетани-

Таблица 2. Сывороточный уровень маркера апоптоза DR5 (мкг/л) в исследуемых группах

Статистические показатели	Группа			
	1-я (БСН)	2-я (ПВЛ)	3-я (ВЖК)	4-я (ВЖК и ПВЛ)
M ± SD	10,35 ± 9,98*	73,22 ± 53,89*, **	74,4 ± 38,99*, **	100,72 ± 27,22*, **
min–max	3,71–26,05	48,1–112,47	89,9–118,57	90,7–146,66

* – достоверность различий средних показателей сывороточной концентрации DR5 с показателями контрольной группы по методу Манна – Уитни ($p < 0,01$);

** – достоверные различия средних показателей сывороточной концентрации DR5 с показателями 1-й группы по методу Манна – Уитни ($p < 0,01$).

Табл. 3. Изменение средних значений сывороточной концентрации ALCAM (мкг/л) у новорожденных в зависимости от результатов НСГ

Статистические показатели	Группа			
	1-я (БСН)	2-я (ПВЛ)	3-я (ВЖК)	4-я (ВЖК и ПВЛ)
1-я проба (48 часов жизни)				
M ± SD	0,65 ± 0,21*	2,05 ± 0,3*, **	2,44 ± 0,33*, **	4,33 ± 0,73*, **
min–max	0,19–1,03	1,2–2,78	1,92–2,81	2,66–9,0
2-я проба (5–7 сутки жизни)				
M ± SD	0,18 ± 0,12*	1,94 ± 0,41*, **	2,07 ± 0,41*, **	2,93 ± 0,38*, **
min–max	0,1–0,82	1,2–2,63	1,65–2,9	1,99–4,8
3-я проба (12–14 сутки жизни)				
M ± SD	0,14 ± 0,09*	0,76 ± 0,16*, **	1,06 ± 0,48*, **	1,67 ± 0,27*, **
min–max	0,04–0,26	0,53–2,1	0,82–1,6	1,07–1,93

* – достоверность различий средних показателей сывороточной концентрации ALCAM с показателями контрольной группы по методу Манна – Уитни ($p < 0,01$);

** – достоверные различия концентрации ALCAM с показателями 1-й группы по методу Манна – Уитни ($p < 0,01$).

Таблица 4. Средние значения концентрации (мкг/л) в сыворотке крови DR5 и ALCAM у новорожденных в зависимости от исхода заболевания

Исход	Статистические данные (M ± SD)			
	DR5	ALCAM		
		1-я проба	2-я проба	3-я проба
1-я группа (без структурных изменений на НСГ)				
Выжил	8,71 ± 6,13*	0,44 ± 0,16	0,22 ± 0,09*	0,12 ± 0,09*
Смерть	23,78 ± 10,13*	0,59 ± 0,2	0,64 ± 0,15*	0,18 ± 0,12*
2-я группа (ПВЛ)				
Выжил	59,91 ± 43,1*	1,34 ± 0,16*	1,29 ± 0,2*	1,09 ± 0,026*
Смерть	159.69 ± 33.19*	2,2 ± 0,09*	2,18 ± 0,12*	1,56 ± 0,14*
3-я группа (ВЖК)				
Выжил	67,78 ± 31,95*	2,18 ± 0,11*	1,8 ± 0,06*	1,02 ± 0,1
Смерть	124,87 ± 44,7*	2,54 ± 0,06*	2,44 ± 0.1*	1,3 ± 0,17
4-я группа (ПВЛ + ВЖК)				
Выжил	88,13 ± 21,02*	3,68 ± 1,04	2,3 ± 1,01	0,9 ± 0,28
Смерть	130,11 ± 11,58*	4,89 ± 2,06	3,6 ± 0,9	1,82 ± 0,16

* – достоверность различия средних показателей сывороточной концентрации ALKAM и DR5 от контрольной группы по методу Манна–Уитни ($p < 0,01$)

Таблица 5. Корреляционные связи исследуемых факторов с развитием структурных изменений на нейросонографии.

Исследуемые факторы	Группа				
	контрольная	1-я (БСН)	2-я (ПВЛ)	3-я (ВЖК)	сочетанное поражение (ПВЛ + ВЖК)
ALKAM	Корреляционной связи нет		0,94	0,68	0,83
DR5			0,939	0,69	0,797

Указаны только сильные корреляционные связи ($r > 0,6$; $p < 0,01$).

ем ВЖК и ПВЛ. Повышение уровня индукторов апоптоза в первые 48 ч 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].

Заключение

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

Литература

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

Информация об авторах:

Петрухин Андрей Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии и нейрохирургии педиатрического факультета Российского государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 695-0020

Терентьев Александр Александрович, член-корреспондент РАМН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии педиатрического факультета Российского государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-0588

Албагачиева Диана Исламовна, аспирант кафедры неврологии и нейрохирургии педиатрического факультета Российского государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 695-0020
E-mail: albdiana@yandex.ru

Красильщикова Татьяна Михайловна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры неврологии и нейрохирургии педиатрического факультета Российского государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 695-0020

Эрлих Алла Лазаревна, заместитель главного врача по детскому корпусу ГКБ №7
Адрес: 115446, Москва, Коломенский пр-д, 4
Телефон: (499) 782-3085

Карпенко Анна Борисовна, заведующая отделением новорожденных родильного дома №15 г. Москвы
Адрес: 115088, Москва, ул. Шарикоподшипниковская, 3
Телефон: (495) 674-4287

Герасимов Александр Юрьевич, заведующий отделением реанимации новорожденных родильного дома №15 г. Москвы
Адрес: 115088, Москва, ул. Шарикоподшипниковская, 3
Телефон: (495) 674-4287

ИЗ ЖИЗНИ УНИВЕРСИТЕТА

Гусев Е.И., Коновалов А.Н., Сковрцова В.И. Неврология и нейрохирургия: Учебник в 2-х томах. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007.

Учебник содержит базисную информацию по основным разделам фундаментальной и клинической неврологии и нейрохирургии. Представлены современные сведения по анатомии, развитию и морфофункциональным основам функционирования нервной системы, семиотике неврологических нарушений, методам обследования больных. Изложен материал по этиологии, патогенезу и клинике наиболее значимых и распространенных заболеваний центральной и периферической нервной системы, приведены основополагающие принципы их топической и нозологической диагностики. Освещены современные подходы к профилактике и лечению (консервативному и хирургическому) основных форм неврологической патологии, вопросы реабилитации и медико-социальной экспертизы. Учебник предназначен для студентов-медиков, интернов и ординаторов, изучающих неврологию и нейрохирургию.

Неврология: Национальное руководство / Под ред. Е.И.Гусева, А.Н.Коновалова, В.И.Сковрцовой, А.Б.Гехт. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1040 с.

Национальное руководство «Неврология» содержит современную и актуальную информацию о современных методах диагностики и лечения заболеваний нервной системы. Отдельные разделы посвящены клиническим рекомендациям по основным синдромам и заболеваниям. Приложение к руководству на компакт-диске включает главы, не вошедшие в состав печатной части, дополнительные иллюстрации, медицинские калькуляторы, фармакологический справочник. В подготовке настоящего издания в качестве авторов-составителей и рецензентов принимали участие ведущие специалисты-неврологи. Все рекомендации прошли этап независимого рецензирования. Руководство предназначено неврологам, нейрохирургам, кардиологам, терапевтам, врачам общей практики и другим специалистам смежных специальностей, а также студентам старших курсов медицинских высших учебных заведений, интернам, ординаторам, аспирантам.