

# Значение иммунохимического анализа нейроспецифических белков в оценке состояния центральной нервной системы новорожденных из двоен

Н.П.Вайнштейн<sup>1</sup>, Ю.Г.Мухина<sup>1</sup>, В.П.Чехонин<sup>2</sup>, С.О.Рогаткин<sup>3</sup>,  
О.И.Гурина<sup>2</sup>, А.В.Семенова<sup>2</sup>, С.А.Калашников<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Российский государственный медицинский университет, кафедра детских болезней №2, Москва (зав. кафедрой – проф. Ю.Г.Мухина);

<sup>2</sup>ГНЦ социальной и судебной психиатрии им. В.П.Сербского, отдел биологической психиатрии, Москва (зав. отделом – акад. РАМН, проф. В.П.Чехонин);

<sup>3</sup>Российский государственный медицинский университет, кафедра неонатологии ФУВ, Москва (зав. кафедрой – акад. РАМН, проф. Н.Н.Володин);

<sup>4</sup>Российский государственный медицинский университет, кафедра акушерства и гинекологии педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой – акад. РАМН, проф. Г.М.Савельева)

Цель исследования – оценка состояния ЦНС и состоятельности гематоэнцефалического барьера у новорожденных из двоен, родившихся в результате беременностей, наступивших естественно и с применением вспомогательных репродуктивных технологий. Обследованы в раннем неонатальном периоде 88 пар детей из двоен (по 44 двойни в группе). Группы были сходны по массо-ростовым показателям, сроку гестации, оценке по шкале Апгар, общему состоянию при рождении, данным нейросонографического обследования. Иммуноферментный анализ уровней основного белка миелина, нейроспецифической енолазы и антител к ним в сыворотке пуповинной крови не выявил достоверных различий, связанных с применением вспомогательных репродуктивных технологий.

*Ключевые слова:* двойня, новорожденный, вспомогательные репродуктивные технологии, основной белок миелина, нейроспецифическая енолаза, гематоэнцефалический барьер

## Significance of immunochemical assay of neurospecific proteins for evaluation of the functional state of the central nervous system of twin neonates

N.P.Vaynshteyn<sup>1</sup>, Yu.G.Mukhina<sup>1</sup>, V.P.Chekhonin<sup>2</sup>, S.O.Rogatkin<sup>3</sup>,  
O.I.Gurina<sup>2</sup>, A.V.Semenova<sup>2</sup>, S.A.Kalashnikov<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Russian State Medical University, Department of Child Diseases N2, Moscow (Head of the Department – Prof. Yu.G.Mukhina);

<sup>2</sup>V.P.Serbtsky National Research Centre for Social and Forensic Psychiatry, Department of Biological Psychiatry, Moscow (Head of the Department – Acad. RAMS, Prof. V.P.Chekhonin);

<sup>3</sup>Russian State Medical University, Department of Neonatology of Doctors Improvement Faculty, Moscow (Head of the Department – Acad. RAMS, Prof. N.N.Volodin);

<sup>4</sup>Russian State Medical University, Department of Obstetrics and Gynecology of Pediatric Faculty, Moscow (Head of the Department – Acad. RAMS, Prof. G.M.Savelyeva)

The aim of the study was to evaluate the state of the central nervous system and the state of the blood-brain barrier in twin neonates, born of both natural pregnancy and due to subsidiary reproductive technologies. In the early neonatal period there were investigated 88 pairs of children from twins (in 44 twins). The groups were matched in weight-height indices, gestational period, Apgar scores, general state in birth and neurosonographic data. An ELISA analysis of the levels of myelin basic protein, neuron-specific enolase and antibodies to these proteins in umbilical blood serum did not reveal any reliable differences related due to subsidiary reproductive technologies.

*Key words:* twins, neonates, subsidiary reproductive technologies, myelin basic protein, neuron-specific enolase, blood-brain barrier

**В**спомогательные репродуктивные технологии (ВРТ), в основном в виде экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона (ЭКО и ПЭ), в течение последних двух десятилетий все более активно внедряются в клиническую практику [1]. Благодаря совершенствованию репродуктивных технологий ежегодно увеличивается процент успешных переносов эмбрионов, наступивших беременностей и беременностей, завершившихся рождением живого ребенка. В связи с этим становятся все более актуальными исследования, посвященные не только совершенствованию вспомогательных репродуктивных технологий и рождению живого ребенка, но и оценке его состояния в раннем неонатальном периоде с последующим изучением особенностей его дальнейшего развития, анализа состояния здоровья и отсроченных результатов [2–4].

Около четверти беременностей, полученных в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий, являются многоплодными (22,8% в России) [5] в связи с тем, что перенос не одного, а нескольких эмбрионов в полость матки многократно увеличивает вероятность положительного результата небезопасной для здоровья женщины и дорогостоящей процедуры [1]. В то же время в популяции доля естественных многоплодных беременностей не превышает 2%. Нам представляется рациональным проводить раздельное сравнение детей из одноплодных и многоплодных беременностей. При многоплодной беременности, в отличие от одноплодной, выше риск таких осложнений беременности и родов, как угроза прерывания, внутриутробная гипотрофия, гипоксия, фето-фетальная трансфузия, диссоциация развития плодов, преждевременные роды. Значительно чаще родоразрешение проводится оперативным путем. У детей из многоплодных беременностей при рождении чаще, чем в популяции в целом, выявляются признаки морфо-функциональной незрелости и дефицит массы тела, недоношенность. Подавляющее большинство многоплодных беременностей завершаются рождением двух детей. Многоплодные беременности большим количеством плодов редки, исход их часто неблагоприятен в связи с глубокой недоношенностью.

В настоящее время, наряду с нейросонографией, компьютерной и магнитно-резонансной томографией, позволяющими получить представление о строении головного мозга новорожденного, электроэнцефалографией, дающей возможность судить о функционировании ЦНС, для диагностики применяются различные методы определения концентрации белков, специфичных для центральной нервной системы, в биологических жидкостях. Считается, что данные лабораторные показатели являются одними из наиболее чувствительных маркеров не только состояния нервной ткани, но проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), нарушение деятельности которого приводит к избыточному проникновению их в кровь [6]. Повышение проницаемости

гематоэнцефалического барьера может быть обусловлено воздействием факторов «перинатального риска» (таких как гипоксия-ишемия, родовая травма, неонатальные кардиореспираторные и метаболические дисфункции, врожденные инфекции и др.) [7, 8]. При этом нарушение функции гематоэнцефалического барьера является, видимо, вторичной реакцией, возникающей вследствие повреждения астроцитов и эндотелиоцитов церебральных капилляров [9, 10].

В данной работе мы использовали сывороточные уровни основного белка миелина (ОБМ) и антител к нему (АТ к ОБМ) в качестве маркеров состояния олигодендроцитов и сывороточные уровни нейроспецифической енолазы (НСЕ) и антител к ней (АТ к НСЕ) в качестве маркеров состояния нейронов. Как известно, миелинизация проводящих путей начинается во втором триместре беременности и продолжается на протяжении взрослой жизни. Миелинизация ЦНС, особенно переднего мозга, происходит наиболее интенсивно после рождения. В миелинизации нервных проводников в ЦНС принимают участие олигодендроциты. Около 35% всех белков миелина ЦНС представлено семейством основных белков миелина [11]. Таким образом, ОБМ является одним из основных компонентов миелиновой оболочки проводящих путей. Определение сывороточных уровней ОБМ позволяет, по нашему мнению, оценить степень повреждения белого вещества наряду с определением степени нарушения деятельности гематоэнцефалического барьера [12, 13].

Нейроспецифическая енолаза представляет собой гликолитический фермент, специфичный для нейронов, является не только уникальным цитологическим маркером нейронов, но и важнейшим показателем их дифференцировки [14]. Существует мнение об участии ассоциированной с мембраной нейроспецифической енолазы в процессах синтеза макроэргических фосфатов, необходимых для осуществления межсинаптической передачи нервных импульсов [15]. Определение сывороточного уровня нейроспецифической енолазы, наряду с оценкой степени нарушения деятельности гематоэнцефалического барьера, позволяет косвенно оценить степень повреждения мембран нейронов. Нейроспецифическая енолаза обнаруживается в сыворотке крови при структурном нарушении тканевой архитектоники головного мозга, а именно при целом ряде нервных и психических заболеваний, таких как энцефалиты, менингиты, опухоли головного мозга, судороги, черепно-мозговые травмы, гипоксически-ишемические и геморрагические повреждения у взрослых пациентов и детей разного возраста, в том числе у новорожденных [16].

Этиологически различные повреждения нервной ткани (гипоксия-ишемия, травма, инфекции) сопровождаются нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера и элиминацией в кровь нейроспецифических белков, обладающих высокой антигенностью. Контакт нейроспецифических белков с иммунокомпетентными клетками крови может приводить к различному по мощности иммунному ответу, специфичному по отношению к соответствующему белку. Антитела к нейроспецифическим белкам, в свою очередь, могут проникать через поврежденный гематоэнцефалический барьер и связываться с соответствующими антигенами в ткани мозга, где при посредничестве факторов компле-

#### Для корреспонденции:

Вайнштейн Наталья Петровна, ассистент кафедры детских болезней №2 Российского государственного медицинского университета

Адрес: Москва, Ленинский проспект, 117

Телефон: (495) 936-9374

E-mail: ngolubkina@inbox.ru

Статья поступила 04.03.2008 г., принята в печать 30.06.2008 г.

мента происходит запуск неспецифических острофазных реакций, приводящих к аутоиммунному воспалению и цитотоксическому отеку [17].

Имуноферментный скрининг ОБМ и анти-ОБМ-АТ в сыворотке крови здоровых доноров различных возрастных групп (от 0 до 60 лет), проведенный ранее исследователями [18], позволил определить средние значения ОБМ. Согласно этим исследованиям, уровень ОБМ у новорожденных детей на протяжении первых 6 месяцев жизни не превышает 4 нг/мл. У взрослых его средние значения ниже и не превышают 1,5 нг/мл. Полученные данные являются отражением активно протекающего процесса миелинизации у детей в течение первого полугодия жизни. В то же время не было выявлено наличия специфических анти-ОБМ-АТ ни в одном из образцов сыворотки крови здоровых доноров, что, по-видимому, свидетельствует о том, что реальной антигенностью обладает ОБМ лишь в концентрациях, превышающих указанный выше донорский уровень.

Средняя концентрация нейроспецифической енолазы в сыворотке крови здоровых взрослых доноров, по сведениям литературы, составляет  $6,2 \pm 5,7$  нг/мл (при определении иммуноферментными тест-системами на основе моноклональных антител) [15]. Согласно полученным ранее данным, уровень этого белка в сыворотке крови у здоровых новорожденных ( $n = 219$ ) не превышает 16 нг/мл [19]. Необходимо отметить, что, по данным отечественных и зарубежных исследований, иммуноферментный скрининг не позволил обнаружить в образцах крови здоровых доноров различных возрастных групп (от 0 до 60 лет) антител к нейроспецифической енолазе [9].

### Пациенты и методы

В раннем неонатальном периоде были обследованы 176 детей на базе ГУЗ «Центр планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения г. Москвы». Гестационный возраст детей составил от 32,5 до 39,5 нед, масса тела при рождении – от 970 до 3640 г, длина тела – от 34 до 54 см. Мальчиков было 105, девочек – 71, детей из монохориальных двоен – 36, из бихориальных двоен – 140. Средняя оценка по шкале Апгар на первой минуте – 7,8, на пятой минуте – 8,7. В первую группу были включены 88 детей из 44 двоен, рожденных с применением вспомогательных репродуктивных технологий (группа 1 – ВРТ), во вторую – 88 детей из 44 двоен, рожденных в результате беременностей, наступивших естественно (группа 2 – БНЕ). Из исследования были исключены глубоко недоношенные дети, перенесшие тяжелую асфиксию в родах, дети со значимыми пороками развития, с явным течением внутриутробной инфекции, с тяжелыми поражениями ЦНС.

Нейросонографическое исследование проводилось однократно на 2–4-е сутки жизни через большой родничок по общепринятой методике путем получения 10 стандартных сечений [20]. Количественный анализ уровней ОБМ, НСЕ и антител к ним в сыворотке пуповинной крови был произведен иммуноферментными тест-системами на основе моноклональных антител [14], разработанных в лаборатории иммунохимии Государственного научного центра социальной и судебной психиатрии им. В.П.Сербского.

Для обработки данных была использована программа «Statistica 6.0». Распределение полученных данных отличалось от нормального, и для их описания были вычислены медиана и интерквартильный размах. Для сравнения двух независимых групп переменных, имеющих распределение, отличное от нормального, был применен критерий Колмогорова–Смирнова.

### Результаты исследования и их обсуждение

Средний возраст матерей в группе 1 (44 женщины) и в группе 2 (44 женщины) был примерно одинаков – 31,86 и 29,52 года соответственно ( $p > 0,1$  для нулевой гипотезы). В группах сравнения примерно равная доля беременных женщин имела отягощенный по соматическим заболеваниям анамнез – 34 (77%) и 32 (72%) соответственно.

В группе 1 в 2 раза чаще диагностировались гинекологические заболевания – у 40 (91%) матерей против 20 (45,5%) в группе 2, в том числе воспалительные (26 и 18) и спаечные (18 и 3) процессы репродуктивной системы. Акушерский анамнез был отягощен самопроизвольными выкидышами, абортными, внематочными беременностями, а также наличием первичного и вторичного бесплодия у всех матерей в группе 1 и у 34 (77%) в группе 2.

Данная беременность была первой для 24 из 44 (по 55%) женщин как в группе 1, так и в группе 2, повторной для 20 из 44 (по 45%) как в группе 1, так и в группе 2. Анализ особенностей течения беременности у матерей обследованных детей выявил, что беременность протекала без осложнений у небольшой части матерей (в группе 1 – у 1 женщины, в группе 2 – у 8). Угроза прерывания в первом триместре была отмечена у 25 женщин в 1-й группе и у 8 во 2-й; ранний токсикоз – у 17 в 1-й группе и у 16 во 2-й; редукция эмбрионов – у 3 женщин в группе 1. Анемия наблюдалась у 5 женщин в группе 1 и у 2 в группе 2; угроза преждевременных родов – у 13 в группе 1 и у 6 в группе 2; нефропатия – у 18 в группе 1 и у 10 в группе 2; водянка – у 4 в группе 1 и у 9 в группе 2; хроническая внутриутробная гипоксия плодов – у 4 в группе 1 и у 5 в группе 2; многоводие – у 6 в группе 1 и у 7 в группе 2; маловодие – у 4 в группе 1 и у 2 в группе 2. Инфекции мочеполовой системы во время беременности отмечены у 4 матерей в группе 1 и у 6 в группе 2. У двух третей женщин группы 1 потребовалось назначение курса гормональных препаратов (глюкокортикоиды, прогестерон) в связи с высоким риском угрозы прерывания, а в группе 2 – у трети пациенток.

Роды были первыми для большинства (90%) женщин группы 1 и двух третей (68%) группы 2. У подавляющего числа женщин группы 1 (ВРТ) родоразрешение было проведено оперативным путем – 36 (82%), а в группе сравнения (БНЕ) частота оперативного родоразрешения составила 26 (59%). Все двойни, родившиеся в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий, были бихориальными [3]. Из 44 двоен, рожденных в результате беременностей, наступивших естественным путем, 18 (40%) были монохориальными, 26 (60%) – бихориальными.

Обследованные группы новорожденных детей были сравнимы по сроку гестации: в группе 1 – медиана 36,8 нед (интерквартильный размах 35,5–38,0), в группе детей от бере-

менностей, наступивших естественным путем, – 37,5 нед (интерквартильный размах 36,5–38,0).

Доля недоношенных детей в группе 1 составила чуть больше половины – 48 (55%) детей, доношенных с признаками морфо-функциональной незрелости – четвертая часть – 21 (24%) ребенок, доношенных – 19 (21%); в группе 2 было около четверти недоношенных детей – 24 (27%), доношенных с признаками морфо-функциональной незрелости – 38 (43%), доношенных – 26 (30%).

Сравнительная оценка состояния новорожденных по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах жизни показала отсутствие у большинства значимой асфиксии в родах. На 1-й минуте в группе 1 – 7,8 (5–8), в группе 2 – 7,7 (5–8), на 5-й минуте – по 8,7 (6–10 и 6–9) балла.

Состояние при рождении расценено как тяжелое у 12 (14%) новорожденных в группе 1 и у 12 (14%) в группе 2, как среднетяжелое – у 34 (39%) и 25 (28%) детей, как удовлетворительное – у 42 (47%) и 51 (58%) детей. Тяжесть состояния детей в раннем неонатальном периоде была обусловлена как отдельными синдромами дезадаптации, так и их сочетаниями, включавшими в себя синдром дыхательных расстройств, симптомы церебральной ишемии, нарушения обмена веществ. Синдром дыхательных расстройств (СДР) различной степени тяжести наблюдался у 36 (41%) детей в группе 1 и 24 (27%) в группе 2. Из них 24 ребенка в группе 1 и 12 детей в группе 2 имели легкие (в пределах 2 баллов по шкале Сильвермана) дыхательные нарушения, которые не требовали применения вспомогательной вентиляции легких и купировались самостоятельно в течение первых 1–3 часов жизни. По 12 (14%) новорожденных из обеих групп нуждались в проведении респираторной терапии. Шестерым детям в группе 1 и 2 детям в группе 2 было необходимо создание повышенного давления в воздухоносных путях при спонтанном дыхании при постоянном повышенном давлении (СДППД). Шестерым детям в группе 1 и 10 детям в группе 2 проводилась искусственная вентиляция легких (ИВЛ). Симптомы церебральной ишемии выявлены у 10 (I ст. – у 7 детей, II ст. – у 3) детей в группе 1, у 16 (I ст. – у 9 детей, II ст. – у 7) детей в группе 2. Общий отечный синдром I–II степени при рождении отмечен у 6 детей в группе 1 и у 8 в группе 2. По 52 (59%) новорожденных в каждой группе имели признаки внутриутробной гипотрофии, что характерно для детей из многоплодных беременностей. Конъюгационная желтуха I–II ст. наблюдалась у 6 детей 1-й группы и у 8 – 2-й группы. Гемолитическая болезнь новорожденных диагностирована у 2 новорожденных (у одной двойни из группы 2). Динамическая кишечная непроходимость отмечена у 1 ребенка из 2-й группы. Пороки развития и стигмы дизэмбриогенеза выявлены у 5 детей группы 1 (полидактилия кисти – 1, крипторхизм – 2, ВПС – дефект межжелудочковой перегородки – 1, пиелозктазия – 1) и у 4 детей в группе 2 (гипертрофия клитора – 1, крипторхизм – 2, пиелозктазия – 1).

Группы сравнения не различались ( $p > 0,1$ ) по массе тела при рождении: медиана в группе 1 составила 2565 г (интерквартильный размах – 2300–2925), в группе 2 – 2800 г (интерквартильный размах – 2455–3000). Соотношение полов в группе 1 – 53 мальчика и 35 девочек, в группе 2 – 52 и 36 соответственно.

По степени зрелости, половой принадлежности, массовым показателям и оценке по шкале Апгар группы были сходны, однако данные, полученные при проведении ультразвукового исследования головного мозга, позволили разделить новорожденных из двух групп на более мелкие подгруппы.

Часть детей имела нормальную ультразвуковую картину, соответствующую зрелому головному мозгу новорожденно-го: 22 ребенка в группе 1 (подгруппа 1А) и 35 детей в группе 2 (подгруппа 2А).

Ультразвуковые признаки «незрелости» головного мозга [22] в виде недостаточной выраженности рисунка борозд и извилин, наличия полости прозрачной перегородки (septum pellucidum) или полости Верге, умеренного повышения эхогенности перивентрикулярных зон отмечены у 50 новорожденных из группы 1 (подгруппа 1Б) и у 38 детей из группы 2 (подгруппа 2Б), что составило 57% и 43% соответственно.

У 16 детей (подгруппа 1В) в группе 1 и у 15 (подгруппа 2В) в группе 2 было выявлено значительное повышение эхогенности перивентрикулярных зон, иногда в сочетании с псевдокистозными эхонегативными образованиями небольшого (до 5 мм) диаметра в области сосудистых сплетений боковых желудочков. Такая картина трактуется специалистами ультразвуковой диагностики как последствие перинатальной гипоксии-ишемии или антенатально перенесенной инфекции [23]. Анализ анамнестических данных показал, что все дети подгрупп 1В и 2В с перинатальными гипоксическими ишемическими изменениями подвергались воздействию неблагоприятных факторов во время беременности, таких как гестоз, угроза прерывания, инфекция мочеполовой системы, многоводие, маловодие, анемия, внутриутробная гипоксия, причем у значительной части детей (24 из 31) этих факторов было несколько.

У детей, имевших нормальную нейросонографическую картину, уровень ОБМ близок к донорскому значению как в подгруппе ВРТ (подгруппа 1А), так и в подгруппе БНЕ (подгруппа 2А). Уровень ОБМ в обеих подгруппах не различался ( $p > 0,1$  для нулевой гипотезы). Небольшое превышение донорского уровня ОБМ отмечалось у 2 детей из 22 в подгруппе 1А и у 4 из 35 в подгруппе 2А. Антитела к ОБМ в этих подгруппах не выявлены (табл. 1).

В подгруппах детей с нейросонографической картиной «незрелости» головного мозга медиана сывороточного

Таблица 1. Концентрация ОБМ и наличие антител к ОБМ в сыворотке пуповинной крови детей подгрупп ВРТ (1) и БНЕ (2)

Показатели	Ультразвуковая картина головного мозга					
	норма		«незрелость»		гипоксическо-ишемические изменения	
	1А	2А	1Б	2Б	1В	2В
	n = 22	n = 35	n = 50	n = 38	n = 16	n = 15
Концентрация ОБМ, нг/мл; медиана (интерквартильный размах)	3,4 (2,8–3,8)	3,3 (2,6–3,5)	4,3 (3,5–4,9)	4,0 (3,2–4,9)	6,55 (6,3–7,4)	6,9 (5,3–8,6)
Концентрация ОБМ более 4 нг/мл, n (%)	2 (9)	4 (11)	23 (46)	17 (45)	15 (94)	13 (87)
Обнаружены АТ к ОБМ, n (%)	0	0	12 (24)	8 (21)	8 (50)	6 (40)

Таблица 2. Концентрация НСЕ и наличие антител к НСЕ в сыворотке пуповинной крови детей подгрупп ВРТ (1) и БНЕ (2)

Показатели	Ультразвуковая картина головного мозга					
	норма	«незрелость»				гипоксически-ишемические изменения
	1А n = 22	2А n = 35	1Б n = 50	2Б n = 38	1В n = 16	2В n = 15
Концентрация НСЕ, нг/мл;						
медиана	14,0	13,0	14,0	13,8	18,2	17,8
(интерквартильный размах)	(12,0–15,0)	(12,0–15,0)	(12,0–17,4)	(12,0–16,7)	(15,9–21,9)	(17,0–18,9)
Концентрация НСЕ более 16 нг/мл, n (%)	0	1	22 (44)	12 (43)	12 (75)	14 (93)
Обнаружены АТ к НСЕ, n (%)	0	0	0	0	10 (62)	7 (47)

уровня ОБМ составляет 4,3 нг/мл (интерквартильный размах 3,5–4,9) в подгруппе 1Б и 4,0 нг/мл (интерквартильный размах 3,2–4,9) в подгруппе 2Б. В этих подгруппах нет различий уровня ОБМ ( $p > 0,1$  для нулевой гипотезы). Незначительное превышение донорского уровня ОБМ отмечено примерно в половине случаев в каждой подгруппе. Антитела к ОБМ в этих подгруппах выявлены в небольших концентрациях: у 12 детей в подгруппе 1Б в средней концентрации 1,49 нг/мл и у 8 – в подгруппе 2Б в средней концентрации 0,68 нг/мл.

У детей с нейросонографическими признаками гипоксически-ишемических изменений головного мозга (подгруппы 1В и 2В) уровень ОБМ был повышен почти у всех детей. Концентрации ОБМ в подгруппах не различались ( $p > 0,1$  для нулевой гипотезы). Антитела к ОБМ выявлены у 8 детей в подгруппе 1В в средней концентрации 2,58 нг/мл и у 6 в подгруппе 2В в средней концентрации 2,2 нг/мл.

В подгруппах детей, имевших нормальную нейросонографическую картину, уровень НСЕ близок к донорскому значению (16 нг/мл) как в подгруппе ВРТ (подгруппа 1А), так и в подгруппе БНЕ (подгруппа 2А). Уровень НСЕ в обеих подгруппах не различался ( $p > 0,1$  для нулевой гипотезы). Небольшое превышение донорского уровня ОБМ отмечалось у 1 ребенка из 35 в подгруппе 2А. Антитела к ОБМ в этих подгруппах не выявлены (табл. 2).

У детей с нейросонографической картиной «незрелости» головного мозга медианы сывороточного уровня НСЕ в подгруппах 1Б и 2Б не различались ( $p > 0,1$  для нулевой гипотезы). Незначительное превышение донорского уровня НСЕ отмечено примерно в половине случаев в каждой подгруппе. Антитела к НСЕ в этих подгруппах не выявлены.

У детей с нейросонографическими признаками гипоксически-ишемических изменений головного мозга (подгруппы 1В и 2В) уровень НСЕ был повышен почти у всех детей. Медианы концентрации НСЕ в подгруппах не различались ( $p > 0,1$  для нулевой гипотезы). Антитела к НСЕ выявлены у 10 детей в подгруппе 1В в средней концентрации 0,92 нг/мл и у 7 в подгруппе 2В в средней концентрации 1,04 нг/мл.

При попарном сравнении подгрупп экстракорпорально-оплодотворения и беременностей, наступивших естественно, имевших сходную нейросонографическую картину «нормы», «незрелости» и «гипоксически-ишемических изменений» (1А с 2А; 1Б с 2Б и 1В с 2В), достоверной разницы в уровнях ОБМ и НСЕ между ними не выявлено. В то же

время при сравнении подгрупп «гипоксически-ишемических изменений» с подгруппами «нормы» и «незрелости» различия уровней ОБМ ( $p < 0,01$ ) и НСЕ ( $p < 0,01$ ) были достоверными.

#### Выписка из истории развития №869

Мать Х., 31 год, генеральный директор. Из анамнеза: соматически – здорова, гинекологически – лейкоплакия 4 года назад – лазеркоагуляция; лапароскопия 2 года назад – разделение спаек, бесплодие вторичное 12 лет. Беременность первая – 12 лет назад – медицинский аборт, беременность вторая (данная) – 1-я попытка ЭКО – протекала с нефропатией 6–7 баллов (повышение артериального давления, общая прибавка в весе – 20 кг). Срок гестации к дате родов – 38 недель. Заключительный диагноз: первые своевременные оперативные роды. Бихориальная биамниотическая двойня. Смешанное ягодичное предлежание 1-го плода. Бесплодие вторичное 12 лет. Состояние после ЭКО.

Первый ребенок: мальчик, весом 3500 г, ростом 51 см, окружность головы 35 см, окружность груди 33 см, оценка по шкале Апгар 8–9 баллов. Степень зрелости по шкале Дубовица – 39 недель. Состояние при рождении удовлетворительное. Активен, сосет охотно, мышечный тонус и рефлексы физиологические. По внутренним органам – без патологии. С рождения на грудном вскармливании. По данным НСГ – без патологии. Концентрация ОБМ в пуповинной крови – 3,9 нг/мл, антитела к ОБМ отсутствуют. Концентрация НСЕ в пуповинной крови – 12,0 нг/мл, антитела к НСЕ отсутствуют. Диагноз: здоров. Выписан домой в удовлетворительном состоянии.

Второй ребенок: мальчик, весом 3140 г, ростом 51 см, окружность головы 34 см, окружность груди 32 см, оценка по шкале Апгар 8–9 баллов. Степень зрелости по шкале Дубовица – 38 недель. Состояние при рождении удовлетворительное. Активен, сосет охотно, мышечный тонус и рефлексы физиологические. По внутренним органам – без патологии. С рождения на грудном вскармливании. По данным НСГ – без патологии. Концентрация ОБМ в пуповинной крови – 2,4 нг/мл, антитела к ОБМ отсутствуют. Концентрация НСЕ в пуповинной крови – 12,0 нг/мл, антитела к НСЕ отсутствуют. Диагноз: здоров. Выписан домой в удовлетворительном состоянии.

#### Выписка из истории развития №2900

Мать К., 28 лет, домохозяйка. Из анамнеза: соматически – здорова, перенесла сифилис 4 года назад – пролечена, бесплодие первичное 8 лет; беременность первая (данная) – 1-я попытка ЭКО – протекала с легким токсикозом первой половины, угрозой прерывания в 18 и 26–27 нед, ВЗРП, многоводие. Срок гестации к дате родов – 35–36 нед. Заключительный диагноз: первые преждевременные роды. Бихориальная биамниотическая двойня. Головное предлежание 1-го плода. Раннее излитие вод. Многоводие. Бесплодие первичное 8 лет. Состояние после ЭКО. Эпизиотомия, эпизиорафия. Раннее послеродовое кровотечение, ручное обследование матки.

Первый ребенок: девочка, весом 1850 г, ростом 40 см, окружность головы 31 см, окружность груди 28 см, оценка по

шкале Апгар 8–9 баллов, по шкале Сильвермана – 0 баллов. Степень зрелости по шкале Дубовица – 36 нед. Состояние при рождении – средней тяжести. Получала антигеморрагическую, инфузионную терапию. По внутренним органам – без патологии. По данным ЭхоКГ – открытый артериальный проток и открытое овальное окно. По данным НСГ, структуры мозга не изменены, повышение эхогенности паренхимы перивентрикулярных зон головного мозга. Концентрация ОБМ в пуповинной крови – 8,2 нг/мл, антител к ОБМ – 0,86 нг/мл. Концентрация НСЕ в пуповинной крови – 17,5 нг/мл, антитела к НСЕ отсутствуют. Диагноз: ЗВУР. Недоношенность. Переведена в ГКБ №7.

Второй ребенок: мальчик, весом 2500 г, ростом 48 см, окружность головы 34 см, окружность груди 31 см, оценка по шкале Апгар 7–8 баллов, по шкале Сильвермана – 3–4 балла. Степень зрелости по шкале Дубовица – 35 недель. Состояние при рождении тяжелое за счет симптомов СДР. На ИВЛ ребенок находился 22 часа, затем на спонтанном дыхании при постоянном повышенном давлении – 8 часов. Получал седативную, антигеморрагическую, инфузионную терапию. По данным ЭхоКГ – ВПС – мышечный верхушечный ДМЖП, открытый артериальный проток и открытое овальное окно, сократительная функция левого желудочка удовлетворительная. По данным НСГ, структуры мозга не изменены, значительное повышение эхогенности перивентрикулярных зон паренхимы головного мозга. Концентрация ОБМ в пуповинной крови – 6,3 нг/мл, антител к ОБМ – 3,2 нг/мл. Концентрация НСЕ в пуповинной крови – 18,0 нг/мл, антител к НСЕ – 0,8 нг/мл. Диагноз: пневмопатия (ателектазы). ВПС (ДМЖП). Недоношенность. Переведен в ГКБ №7.

При сравнении описанных выше групп следует отметить, что в 1-й группе (ВРТ) при сходном среднем возрасте матерей соматические и гинекологические заболевания встречались в 2 раза чаще, акушерский анамнез отягощен в полтора раза чаще, гормональная поддержка беременности в связи с угрозой прерывания была необходима в 2 раза чаще, чем во 2-й группе (БНЕ). Следовательно, дети группы ВРТ подвергались внутриутробному воздействию неблагоприятных факторов чаще, чем дети группы БНЕ, что обусловлено не только применением вспомогательных репродуктивных технологий, но и контингентом женщин, вынужденных использовать вспомогательные репродуктивные технологии. Оперативное родоразрешение применено в группе ВРТ в полтора раза чаще и на чуть более ранних сроках. При клиническом наблюдении за детьми не выявлено достоверных отличий в тяжести состояния, распределении по нозологиям. Небольшая одинаковая доля детей в каждой группе родилась в тяжелом состоянии, обусловленном дыхательной недостаточностью, потребовавшей респираторной терапии в виде создания повышенного давления в воздухоносных путях при спонтанном дыхании при постоянном повышенном давлении и искусственной вентиляции легких. При этом среди детей, нуждавшихся в респираторной терапии, более тяжелые дыхательные нарушения отмечены у детей 2-й группы, большая часть которых нуждалась в проведении ИВЛ. Тяжелые дыхательные нарушения у них сопровождались симптомами церебральной ишемии. Вероятно, с этим, а также с более бережной тактикой

родоразрешения в группе ВРТ связано различие частоты выявления клинических симптомов церебральной ишемии. Дети из 1-й группы в 2 раза чаще имели легкие самостоятельно купировавшиеся дыхательные нарушения, что можно объяснить чуть меньшим сроком гестации и степенью зрелости этих детей.

При сравнении сходных по массо-ростовым показателям, гестационному сроку, степени морфо-функциональной зрелости групп детей из двоен, рожденных с применением вспомогательных репродуктивных технологий и зачатых естественно, следует отметить сходство нейросонографической картины с учетом несколько большей доли ультразвуковых признаков «незрелости» в группе ВРТ, что соответствует несколько меньшему сроку гестации в этой группе. У детей, имевших нормальную ультразвуковую картину и ультразвуковые признаки «незрелости» головного мозга (что можно считать нормой для соответствующего гестационного возраста), уровень ОБМ близок к донорскому или незначительно превышает его. Нами не было выявлено наличия специфических анти-ОБМ-антител в сыворотке пуповинной крови детей подгрупп, имевших нейросонографическую картину «нормы». Наши результаты сходны с более ранними работами [18], предполагающими, что реальной антигенностью обладает ОБМ лишь в концентрациях, превышающих указанный выше донорский уровень. Ультразвуковые признаки «незрелости» головного мозга примерно в половине случаев сопровождаются незначительным превышением донорского уровня ОБМ и, как следствие, появлением антител примерно у четверти детей, что, возможно, связано с активно протекающими процессами миелинизации в ЦНС и с повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера у недоношенных и морфо-функционально незрелых детей.

У детей с нормальной ультразвуковой картиной и сонографическими признаками «незрелости» головного мозга уровень нейроспецифической енолазы в пуповинной крови был близок к донорскому, антитела к этому белку отсутствовали. В то же время примерно в половине случаев признаки «незрелости» головного мозга сопровождались незначительным превышением донорского уровня нейроспецифической енолазы, что, возможно, связано с повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера у недоношенных и морфо-функционально незрелых детей.

Нейросонографическая картина гипоксически-ишемических изменений в виде повышения эхогенности перивентрикулярных зон, иногда в сочетании с внутриутробно сформировавшимися небольшого диаметра (до 5 мм) псевдокистозными эконегативными образованиями в области сосудистых сплетений головного мозга, сопровождается достоверным повышением уровней ОБМ и НСЕ и появлением антител примерно у половины обследованных детей. Эти нейросонографические и иммунохимические изменения, вероятно, вызваны перенесенным внутриутробно воздействием неблагоприятных факторов течения многоплодной беременности, в частности, гипоксией, ишемией, нарушениями гомеостаза, инфекционными агентами. Наличие антител может свидетельствовать об имевшем место более значительном, чем зафиксировано при рождении, внутриутробном повышении уровней ОБМ и НСЕ.

## Выводы

1. Преморбидный фон женщин, использовавших вспомогательные репродуктивные технологии, более отягощен, в том числе и факторами, вызывающими бесплодие. Беременность двойней, наступившая после применения ВРТ, протекает тяжелее, чем наступившая естественным путем беременность двойней; чаще встречаются и более выражены такие осложнения, как угроза прерывания на разных сроках и нефропатия.

2. Представленные выше группы сходны по массо-ростовым показателям, соотношению полов, сроку гестации и степени зрелости, течению раннего неонатального периода, нейросонографической картине и уровням ОБМ и НСЕ и антител к ним в сыворотке крови. Обследованные дети, зачатые с применением вспомогательных репродуктивных технологий и родившиеся в соответствующие доношенной (или почти доношенной) беременности сроки, не имеют достоверных отличий от детей из естественно зачатых двоен.

3. Не выявлено достоверных различий в проницаемости гематоэнцефалического барьера у новорожденных детей из двоен, родившихся в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий и наступивших естественно беременностей, на основании проведенного сравнения уровней ОБМ и НСЕ и антител к ним в сыворотке крови.

4. Перинатальное гипоксически-ишемическое поражение ЦНС у новорожденных, выявленное на НСГ в первые дни жизни новорожденных из двоен (повышение экзогенности перивентрикулярных зон, иногда в сочетании с внутриматрично сформировавшимися небольшого диаметра псевдокистозными эконегативными образованиями в области сосудистых сплетений головного мозга), сопровождается достоверным увеличением уровней ОБМ и НСЕ и непостоянным появлением антител к ним в сыворотке пуповинной крови.

## Литература

- Кулаков В.И., Леонов Б.В. Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия (теоретические и практические подходы). Руководство для врачей. – М.: Медицинское информационное агентство, 2000. – 782 с.
- Бахтиярова В.О. Состояние здоровья детей, родившихся в результате экстракорпорального оплодотворения и искусственной инсеминации. Автореф. дис. ... к.м.н. – М., 1993. – 30 с.
- Здановский В.М., Витязева И.И. Течение и исход беременностей после лечения бесплодия методами вспомогательной репродукции (МВР) // Пробл. репродукции. – 2000. – №3. – С.55–57.
- Кулаков В.И., Бахтиярова В.О., Барашнев Ю.И., Леонов Б.В. Оценка состояния здоровья детей, рожденных в результате экстракорпорального оплодотворения и искусственной инсеминации // Акуш. и гин. – 1995. – №3. – С.35–38.
- Регистр Российской ассоциации репродукции человека. Вспомогательные репродуктивные технологии в России: отчет №5 за 1999 г. // Пробл. репродукции. – 2001. – №5. – С.8–13.

- Чехонин В.П., Кекелидзе З.И., Рябухин И.А. и др. Комплексный иммуноферментный анализ нейроспецифических белков как критерий оценки проницаемости гематоэнцефалического барьера при нервно-психических заболеваниях // Рос. психиатр. журн. – 1998. – №2. – С.49–54.
- Чехонин В.П., Рогаткин С.О., Блинов Д.В. и др. Перспективы применения иммуноферментного анализа нейроспецифических антигенов в перинатальной неврологии // Вопр. гинекол., акуш. и перинатол. – 2003. – Т.2. – №4. – С.9–14.
- Чехонин В.П., Лебедев С.В., Блинов Д.В. и др. Патогенетическая роль нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера для нейроспецифических белков при перинатальных гипоксически-ишемических поражениях центральной нервной системы у новорожденных // Вопр. гинекол., акуш. и перинатол. – 2004. – Т.3. – №2. – С.50–61.
- Гурина О.И. Моноклональные антитела к нейроспецифическим антигенам (получение, иммунохимический анализ, исследование проницаемости гематоэнцефалического барьера). Автореф. дис. ... д.м.н. – М., 2005. – 44 с.
- Чехонин В.П., Рябухин И.А., Белопасов В.В. и др. Иммуноферментный анализ антител к нейроспецифическим белкам в оценке состояния функции гематоэнцефалического барьера // Иммунология. – 1996. – №2. – С.67–69.
- Хохлов А.П., Савченко Ю.Н. Миелитопатии и демиелинизирующие заболевания. – М.: Медицина, 1990. – 270 с.
- Терлецкая Я.Т., Белик Я.В., Козулина Е.П. и др. Основной белок миелина. Химические и иммунологические свойства // Мол. биол. – 1987. – №21. – С.15–26.
- Чехонин В.П., Гурина О.И., Дмитриева Т.Б. и др. Основной белок миелина. Строение, свойства, функции, роль в диагностике демиелинизирующих заболеваний // Вопр. мед. химии. – 2000. – Т.46. – №6. – С.549–563.
- Чехонин В.П., Гурина О.И., Дмитриева Т.Б. Моноклональные антитела к нейроспецифическим белкам. – М.: Медицина, 2007. – 341 с.
- Чехонин В.П., Дмитриева Т.Б., Жирков Ю.А. Иммунохимический анализ нейроспецифических антигенов. – М.: Медицина, 2000. – 416 с.
- Чехонин В.П., Рябухин И.А., Гурина О.И. и др. Иммуноферментный анализ нейроспецифической енолазы на основе моноклональных антител в оценке проницаемости гематоэнцефалического барьера при нервно-психических заболеваниях // Рос. психиатр. журн. – 2000. – №4. – С.15–19.
- Чехонин В.П., Рябухин И.А., Гурина О.И. и др. К вопросу о механизмах аутоагрессии антител к нейроспецифическим белкам через гематоэнцефалический барьер // Рос. психиатр. журн. – 1997. – №1. – С.43–45.
- Семенова А.В. Основной белок миелина (получение моноклональных антител, разработка иммуноферментного анализа и клинико-лабораторное применение). Автореферат дис. ... к.м.н. – М., 2002.
- Караганова Е.Я. Проницаемость гематоэнцефалического барьера у беременных, рожениц, плодов и новорожденных при ОПГ-гестозах. Автореф. дис. ... к.м.н. – М., 1996.
- Клиническое руководство по ультразвуковой диагностике / Под ред. В.В.Миткова, М.В.Медведева. – М.: Видар-М, 2003. – Т.3. – 308 с.
- Чехонин В.П., Гурина О.И., Портная Т.С. и др. Моноклональные анти-NSE-антитела: получение, характеристика и иммуноферментный анализ // Вопр. мед. химии. – 2002. – Т.48. – №5. – С.477–484.
- Рогаткин С.О., Рогаткина Е.В., Акбашева Н.Г., Ибрагимов А.А. Особенности эхографической картины незрелого мозга у новорожденных детей с экстремально низкой массой тела // Ультразвук. диагност. в акуш., гин. и педиатр. – 1994. – №2. – С.58–65.
- Ватолин К.В. Ультразвуковая диагностика заболеваний головного мозга у детей. – М.: Видар, 1995. – 120 с.