

СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ КАК КРИТЕРИЙ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ И ГИПЕРБИЛИРУБИНЕМИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ

Гасанов С.Ш., Аллахвердиева М.Г., Ханларова Н.А., Гаджиева А.С.

НИИ педиатрии им. К.Фараджевой, клинический родильный дом им. Ш.Алекперовой, Ташкент, Республика Узбекистан

Ключевые слова: гипербилирубинемия у новорожденных, нейроспецифические белки

Введение

В настоящее время перинатальные гипоксические и дисметаболические поражения головного мозга находятся в центре внимания исследователей. Это объясняется высокой частотой данной патологии, тяжёлыми последствиями, приводящими к инвалидизации детей и нарушению их социальной адаптации [1].

Исследование патогенетических основ поражения мозга у новорожденных с различной степенью тяжести гемолитической болезни, так же, как и с конъюгационной желтухой представляет большой научный и практический интерес. Сочетание желтухи с гипоксией особенно опасно из-за повышенной чувствительности нервных клеток к гипоксии, когда недостаток кислорода вызывает локальный тканевый ацидоз, который может существовать еще некоторое время после коррекции рН крови [11,12].

Известно, что уровень токсичности билирубина зависит от степени зрелости ребенка, выраженности гипоксии (как пре-, интра-, так и постнатальной), гипотермии, гипогликемии, гиперосмолярности, а также развития таких постнатальных клинических состояний, как респираторный дистресс-синдром, сепсис, менингит, дегидратация [3,5].

Одним из наиболее вероятных объяснений того, что нет корреляции между концентрацией общего билирубина и развитием БЭ, является изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).

Это позволило прийти к заключению о возможном использовании различных методов определения в сыворотке крови нейроспецифических белков, которые в норме не определяются, и поступают в кровоток лишь при нарушении проницаемости ГЭБ [7, 8].

Изучение диагностического и прогностического значения глиофибрилярного кислого протеина (GFAP) и нейроспецифической енолазы (NSE) как высокоспецифических маркеров проницаемости ГЭБ у новорожденных с ГБ поможет не только оптимизировать тактику ведения больных, но и разработать превентивную терапию поражения мозга [4,8,10].

Материалы и методы

Для исследования функционального состояния гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) было обследовано 80

новорожденных различного гестационного возраста (ГВ) с ГБН и 30 детей с конъюгационной желтухой в динамике неонатального периода.

Для изучения функции гематоэнцефалического барьера были определены концентрации глиофибрилярного кислого протеина (GFAP) и нейроспецифической енолазы (NSE) методом ИФА [2, 9,10]. Определение достоверности различий в группах проводилось непараметрическим W-критерием Уайта. В большинстве случаев беременность у матерей обследуемых детей протекала с осложнениями в виде гестозов, угрозы прерывания, обострения хронической инфекции. У матерей наблюдались различные осложнения родов: слабость родовой деятельности, стремительные роды, обвитие новорожденного пуповиной. Эти осложнения у матерей могли служить одной из предпосылок для развития гипоксии и гипербилирубинемии у их детей.

На основании первичного анализа полученных данных, при изучении течения периода ранней постнатальной адаптации у детей перенесших ГБН разной степени тяжести, нами были сформированы три группы: в 1-ю группу введены 20 новорожденных с легкой гипербилирубинемией, во 2-ю – 25 со среднетяжелой ГБ, в 3-ю – 35 новорожденных с тяжелой гипербилирубинемией.

В качестве контрольной были использованы данные новорожденных, не имеющих признаков гемолитической болезни и других патологических синдромов. Новорожденные контрольной группы (30) родились с оценкой по шкале Апгар 8-10 баллов. Их общее состояние в родильном зале оценено как удовлетворительное. У этих детей гестационный возраст к моменту рождения составил 38–40 недель. Период ранней постнатальной адаптации у всех детей этой группы протекал удовлетворительно.

В первую группу включено 20 новорожденных (25%) с ГБ от 36 до 40 недель (средний ГВ составил 38 недель). Оценка по шкале Апгар на 1-й минуте в среднем была равна 8 баллам (с интервалом колебаний от 7 до 9 баллов), на 5-й минуте – 9,0 баллов (с интервалом от 8 до 10 баллов). У них ведущим неврологическим синдромом был синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости. Все дети были выписаны домой на 5–6 сутки жизни в удовлетворительном состоянии.

Таблиця 1.

Динамика концентрации NSE у детей с ГБН

Группы детей	ДНИ ЖИЗНИ		
	0 – 1	3 – 5	7 – 10
1-я, n=20	16,2 ± 1,5** (8,4 – 23,6)	14,8 ± 1,2** (7,8 – 21,0)	12,6 ± 1,4**^ (6,2 – 19,4)
2-я, n=25	20,4 ± 1,8** (12,4 – 28,1)	18,1 ± 1,7** (10,4 – 26,5)	14,2 ± 1,6**^ (8,6 – 22,5)
3-я, n=35	34,6 ± 2,5** (14,2 – 53,8)	15,7 ± 3,4**^^ (2,7 – 30,6)	14,4 ± 2,6**^^ (2,1 – 26,4)
Контрольная, n=30	1,2 ± 0,19 (0,2 – 2,2)	1,4 ± 0,09^^ (0,9 – 2,8)	1,3 ± 0,10^^ (1,1 – 3,0)

Примечание: статистически значимая розница:

- с показателями контрольной группы: * – p<0,05; ** – p<0,01.
- с показателями первого дня жизни: ^ – p0<0,05; ^^ – p0<0,01.

Таблиця 2.

Динамика концентрации GFAP у детей с ГБН

Группы детей	ДНИ ЖИЗНИ		
	0 – 1	3 – 5	7 – 10
1-я, n=20	16,2 ± 1,5** (8,4 – 23,6)	14,8 ± 1,2** (7,8 – 21,0)	12,6 ± 1,4**^ (6,2 – 19,4)
2-я, n=25	20,4 ± 1,8** (12,4 – 28,1)	18,1 ± 1,7** (10,4 – 26,5)	14,2 ± 1,6**^ (8,6 – 22,5)
3-я, n=35	34,6 ± 2,5** (14,2 – 53,8)	15,7 ± 3,4**^^ (2,7 – 30,6)	14,4 ± 2,6**^^ (2,1 – 26,4)
Контрольная, n=30	1,2 ± 0,19 (0,2 – 2,2)	1,4 ± 0,09^^ (0,9 – 2,8)	1,3 ± 0,10^^ (1,1 – 3,0)

Примечание: статистически значимая розница:

- с показателями контрольной группы: * – p<0,05; ** – p<0,01.
- с показателями первого дня жизни: ^ – p0<0,05; ^^ – p0<0,01.

Во вторую группу были включены 25 детей (31,2%) с ГВ 32-40 недель (средний ГВ составил 36,8 недель). Оценка по шкале Апгар на 1-й минуте у них составила в среднем 7,6 баллов (с интервалом колебаний от 6 до 8 баллов), на 5 минуте – 8,6 баллов (с интервалом колебаний от 8 до 9 баллов). В родильном зале состояние новорожденных этой группы было расценено как удовлетворительное в 7 случаях, как средней тяжести – в 18 наблюдениях. У детей этой группы при рождении в неврологическом статусе преобладал синдром угнетения функций ЦНС, который отмечался у 18 (72%) новорожденных. У остальных детей на первый план выступал синдром нейро-рефлекторной возбудимости (28%). Динамические наблюдения показали положительный характер неврологических синдромов. У детей этой группы к моменту выписки неврологическая патология не выявлена. Однако состояние 6-ти новорожденных потребовало продолжить лечение на втором этапе выхаживания, остальные дети были выписаны домой на 6–8 сутки в удовлетворительном состоянии.

В третью группу включены 35 новорожденных с тяжелым течением заболевания. Все дети этой группы родились от матерей с отягощенным соматическим, акушерско-гинекологическим анамнезом, имеющих от 3 до 9 беременностей, 2 и более медицинских аборта, самопроизвольные выкидыши. У 3 женщин в анамнезе отмечалась антенатальная смерть плода, у 12 – предыдущие дети перенесли ГБН разной степени тяжести. Средний гестационный возраст у детей этой группы был 36,2±0,02 недели, диапазон колебаний составил от 32 до 39 недель. Оценка по шкале Апгар на 1-й минуте составила в среднем 7,2 балла (колебания от 5 до 8 баллов), на 5-й минуте 8,6 балла (колебания от 6 до 9 баллов). При рождении тяжесть состояния была обусловлена клиническими проявлениями ГБ.

У детей третьей группы ведущими неврологическими синдромами были синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости (у 10 детей), синдром угнетения (у 20 новорожденных), гипертензионный синдром (у 5 детей).

В связи с отягощенным течением периода ранней адаптации и развитием неврологических осложнений 19 (54,2%) детей из этой группы были переведены на второй этап выхаживания на 3-8 сутки жизни (в среднем – на 7 сутки) для дальнейшего наблюдения и лечения.

Результаты и их обсуждение

Результаты иммунохимического определения NSE и GFAP у новорожденных с гемолитической болезнью представлены на таблицах 1 и 2.

Как видно из таблицы 1, по сравнению с 1-м днем жизни на 3-5 сутки отмечалось снижение концентрации NSE на 8,6%, на 7-10 сутки снизилось на 22,2%. Однако динамическое изменение NSE оказалось недостоверным по сравнению с исходными данными (P0>0,05).

Динамика концентрации NSE у детей 2-й группы имел аналогичный характер, и не имела достоверных отличий от уровней соответствующих антигенов в первой группе. Однако содержание данного белка в этой группе было высоко достоверно выше, чем у детей контрольной группы.

Динамика уровней NSE у детей 3-й группы на 3–5 и 7–10 дни жизни имела несколько иной характер, чем у детей 1-й и 2-й групп. Концентрация данного НСБ в динамике снижалась 2,4 раза и более (p0<0,01).

Аналогичный характер изменений у наблюдаемых новорожденных устанавливался в динамике концентрации GFAP (таб.2).

Динамика уровней GFAP у детей 2-й группы имела идентичный характер, и не имела достоверных отличий от уровней соответствующих антигенов в первой группе (таб. 3). Однако содержание данного белка в этой группе было достоверно выше (p<0,001), чем у детей контрольной группы. При сравнении концентрации GFAP во 2-й и 3-й группах определено, что содержание нейроспецифических антигенов достоверно выше в группе с тяжелой формы ГБН (таб. 3).

Анализ полученных данных позволяет предположить, что концентрация нейроспецифических белков не имеет прямой зависимости от уровня билирубина в сыворотке крови новорожденных. В то же время она указывает на степень проницаемости ГЭБ и тем самым определяет возможность проникновения даже невысоких концентраций токсической фракции билирубина в мозг с развитием различных токсико-метаболических неврологических повреждений от минимальных церебральных дисфункций

Концентрации NSE и GFAP на пике гипербилирубинемии у новорожденных с конъюгационной желтухой

Группы новорожденных	NSE (нг/мл) M±m		GFAP (нг/мл) M±m	
	5-6 день жизни	10-12 день жизни	5-6 день жизни	10-12 день жизни
1-я, n=16	41,2 ± 3,6 (24,6 – 56,4)	38,0 ± 3,4 (21,8 – 52,5)	58,4 ± 7,6 (30,2 – 85,4)	54,9 ± 7,4 (26,4 – 81,0)
2-я, n=14	25,6 ± 3,0 (16,2 – 34,2)	22,5 ± 2,8 (13,4 – 30,8)	26,8 ± 2,4 (18,6 – 34,2)	23,6 ± 2,1 (16,4 – 31,2)
Контрольная группа, n=20	1,91 ± 0,09 (0,9 – 2,8)	2,1 ± 0,10 (1,1 – 2,9)	2,2 ± 0,1 (0,9 – 3,1)	2,1 ± 0,08 (0,9 – 2,9)

до “ядерной желтухи”. При этом повреждающее действие свободного билирубина на нервные клетки, в свою очередь, усиливают проницаемость гематоэнцефалического барьера и создают так называемый “порочный круг”. По-видимому, именно с этим связано то, что тяжесть неврологических нарушений находится в прямой зависимости от концентрации изучаемых антигенов.

30 новорожденных с конъюгационной желтухой были разделены на две группы: в 1-ю – включены 16 новорожденных детей с ГВ 29-38 недель (средний ГВ составил 34,6 недели); во 2-ю – отнесены 14 новорожденных детей с ГВ от 35 до 40 недель (средний ГВ составил 37,5 недели).

Установлено, что в сыворотке крови новорожденных 1-й и 2-й группы на 5-6 день жизни концентрация НСБ были высокодостоверно выше ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Выявлено, что у детей 1-й группы показатели НСБ достоверно выше ($p < 0,01$), чем во 2-й группе, что свидетельствует о более выраженном нарушении проницаемости ГЭБ у этих новорожденных. Кроме того, установлено, что корреляционной зависимости между уровнем непрямого билирубина и уровнем НСБ в обеих группах не существует.

Клинические наблюдения показывают, что тяжесть неврологических проявлений и частота неврологических осложнений в 1-й группе достоверно выше. Это свидетельствует о том, что тяжелая хроническая внутриутробная гипоксия в сочетании с факторами острой гипоксии приводит к нарушению проницаемости ГЭБ и повреждению мозга, открытый ГЭБ способствует проникновению антигенов из крови в мозг.

Выводы

1. У новорожденных с гемолитической болезнью существует четкая корреляционная зависимость состоянием ребенка и уровнем НСБ ($r = 0,66$; $p < 0,01$); концентрация НСБ не имеет прямой зависимости от уровня свободного билирубина в сыворотке крови и указывает на степень проницаемости ГЭБ.

2. У новорожденных с конъюгационной желтухой выраженные клинические проявления со стороны ЦНС связаны сочетанным воздействием – хронической и / или острой гипоксией и токсическим действием билирубина на ГЭБ.

3. Снижение уровней GFAP и NSE у новорожденных с непрямым ГБ является надежным показателем оптимизации функций ГЭБ и предотвращения развития ядерной желтухи.

Рецензент: чл.-кор. НАМН України, д.мед.н., професор Волосовець О.П.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барашнев Ю.П. Перинатальная неврология. М. 2001.
2. Чехонин В.П. Иммунохимический анализ нейроспецифических антигенов, 1998. Беляева И.А. // Нейроспецифические белки в крови и ликворе при клещевой нейроинфекции. (Клинико-диагностические и прогностические аспекты). Автореф. дисс... к.м.н., 1995, 28 с.
3. Володин Н.Н., Дегтярева А.В., Дегтярев Д.Н. Основные причины желтух у новорожденных детей и принципы дифференциальной диагностики. // Российский Вестник перинат. и педиатрии 2004, №5, с. 19-24.
4. Гайдар Л.И. и др. // Экспрессия глияльного фибриллярного кислого белка в развивающемся мозге человека – Ж. “Биохимия”, 1991, 56 (7), с. 1322-1329.
5. Ганнушкина И.В. Патофизиология нарушений мозгового кровообращения. В. Кн.: Мозг: Теоретические и клинические аспекты (под ред. Покровского В.И.), М., Медицина, 2003, 463-89.
6. Караганова Е.Я. // Проницаемость ГЭБ у беременных, рожениц, плодов и новорожденных при ОПГ-гестозах. Автореф. дисс... к.м.н., Москва, 1996, с. 24.
7. Караганова Е.Я. // Проницаемость ГЭБ у беременных, рожениц, плодов и новорожденных при ОПГ-гестозах. Автореф. дисс... к.м.н., Москва, 1996, с. 24.
8. Рогаткин С.О., Блинов Д.В., Володин Н.Н. Перспективы применения иммуноферментного анализа нейроспецифических антигенов в перинатальной неврологии (клинико-экспериментальные исследования). Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии, 2003: 2(4), 8-15.
9. Чехонин В.П., Лебедев С.В., Дмитриева Т.Б. Иммуноферментный анализ NSE и GFAP как критерий динамической оценки проницаемости гематоэнцефалического барьера крыс при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении ЦНС. Бюллетень экспериментальной биологической медицины. 2003; 136; 299-303.
10. Eng L.F. The glial fibrillary acidic protein: The major protein, constituent of glial filaments. Scand J Immunology, 1982, sup 9, p.41-51.
11. Newman T.B., Klebanoff M.N. Neonatal hyperbilirubinemia and long-term outcome: Another look at the Collaborative. Perinatal Project, Pediatrics 02: 651-657, 1993.
12. Wong RJ, Desandre GH, Sibley E, Stevenson DK. Neonatal jaundice and liver disease. In Fanaroff AA, Martin RJ (eds). Neonatal-Perinatal Medicine, Diseases of the Fetus and Infant. Philadelphia: Mosby Elsevier, 2006, P.P. 1419-1465.

**THE LEVEL OF NEUROSPECIFIC ENZYMES AS
CRITERIA ON NEONATAL BRAIN INJURY WITH
PERINATAL HYPOXIA AND HYPERBILIRUBINAEMIA**

*Qasanov S.Sh., Allahverdiyeva M.Q.,
Chanlarova N.A., Qadjiyeva A.S.*

Summary. For investigation of functional position 80 newborns were cured in different ages with hemato-encephalic barrier and 30 children of jaundice with conjugation in neonatology.

For the investigation of QEB's function concentration with GFAR and NSE methods of IFA were determined. It was appeared that there exists exact correlation dependence among the children and the level of NSB on serum of blood ($r=0,66$; $p<0,01$). The concentration of NSB has no dependence with the free bilirubine level and it indicates to the level of conducting QEB. Jaundice with conjugation of newborn marked by clinic changes of central neural System depends on chronic and exact toxic actions bilirubine of QEB.

Key words: hyperbilirubinemia, neurospecific enzymes.
