



А.А. Афонин, И.Г. Логинова, Е.А. Папшева, С.Г. Боброва, Н.А. Друккер

## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПЕРОКСИНИТРИТА И МОЗГОВОГО НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА У ДЕТЕЙ ПЕРВЫХ МЕСЯЦЕВ ЖИЗНИ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМ ГИПОКСИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦНС

*Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии  
Россия, 344012 г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова 43. E-mail: logirina243@gmail.com*

Цель: определить клинико-диагностическое значение пероксинитрита и мозгового нейротрофического фактора в развитии перинатальных поражений центральной нервной системы у новорождённых.

Материалы и методы: обследовано 67 детей в течение первых трех месяцев жизни. Все новорожденные были разделены на 4 группы. Первую группу составили 15 новорожденных с отсроченной манифестацией перинатального поражения ЦНС. Во 2 группу вошли 19 детей с церебральной ишемией (ЦИ) I степени, в 3 группу – 18 новорожденных с ЦИ II-III степени. Контрольную группу составили 15 здоровых новорожденных. В динамике наблюдения у детей проводилась оценка неврологического статуса. В сыворотке крови определяли показатели концентрации пероксинитрита методом спектрофотометрии и мозгового нейротрофического фактора, используя иммуноферментную тест-систему.

Результаты: выявлены достоверные отличия продукции пероксинитрита и мозгового нейротрофического фактора у детей с нарушениями функции ЦНС по сравнению с контрольными значениями.

Заключение: данные изменения лежат в основе формирования перинатального поражения ЦНС, что позволяет рассматривать их не только как маркеры ранней диагностики перинатального поражения мозга и его степени тяжести, но и в качестве критериев адекватности терапии.

*Ключевые слова:* новорожденный, пероксинитрит, мозговой нейротрофический фактор.

A.A. Afonin, I.G. Loginova, E.A. Papsheva, S.G. Bobrova, N.A. Drukker

## CLINICAL AND DIAGNOSTIC VALUE OF PEROXYNITRITE AND BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR IN INFANTS WITH PERINATAL HYPOXIC LESIONS OF THE CNS

*Rostov Scientific and Research Institute of Obstetrics and Pediatrics  
43, Mechnikova Str., Rostov-on-Don, 344012, Russia. E-mail: logirina243@gmail.com*

Purpose: To determine the diagnostic value of peroxynitrite and brain-derived neurotrophic factor in the genesis of perinatal lesions of the central nervous system.

Materials and methods: 67 children were comprehensive survey during the first three months of life. All neonates were randomized and put into 4 groups, depending on the presence and severity of perinatal lesions of the central nervous system. The 1 group consisted of 15 infants with delayed manifestation of perinatal lesions to the central nervous system. The 2 group consisted of 19 children with cerebral ischemia (CI) I degree; in group 3 were 18 infants with CI II-III degree. The control group consisted of 15 healthy newborns. In the dynamics of observation in children was evaluated neurological status. The serum concentration ratios of peroxynitrite by spectrophotometry and brain-derived neurotrophic factor using enzyme immunoassay system.

Results: There were significant differences between production of peroxynitrite and brain-derived neurotrophic factor in children with disorders of the central nervous system as compared with control values.

Summary: These changes underlie the formation of perinatal CNS, which allows us to consider them not only as markers of early diagnosis of perinatal brain lesions and its severity, but also as a criteria of adequacy of therapy.

*Keywords:* newborn, peroxynitrite, brain-derived neurotrophic factor.



## Введение

По воздействию на головной мозг новорожденных гипоксию можно рассматривать как универсальный повреждающий фактор [1]. Беременности, возникающие и протекающие на фоне острых и хронических заболеваний женщин, не зависимо от их точек приложения (сердечно-сосудистая система, мочевыводящие пути, эндокринная патология, акушерско-гинекологическая, заболевания респираторного тракта, инфекционные), сопровождаются явлениями внутриутробной гипоксии.

В результате снижения кислородного снабжения мозга, обуславливающего его гипоксически-ишемическое перинатальное поражение, имеет место чрезмерная продукция свободных радикалов. Одним из них является пероксинитрит, проявляющий мощные оксидантные свойства. Он способен разрушать клеточные структуры и вызывать апоптоз [2]. Кроме того, накопление пероксинитрита стимулирует возникновение «агрессивных форм» кислорода, провоцируя развитие оксидативного стресса.

В основе ответа плода на повреждающее воздействие извне, адаптацию в процессе родов и приспособление к внеутробной жизни лежит уровень взаимодействия регуляторных систем организма, метаболических и функциональных адаптационных механизмов. Известно, что головной мозг новорожденного принципиально отличается от мозга взрослых как по активности реакции на гипоксию, так и по своим компенсаторным возможностям. Немаловажную роль в этом играют нейротрофические факторы, такие как мозговой нейротрофический фактор (МНТФ). При повреждении нервных клеток выработка нейротрофинов увеличивается по типу адаптивного компенсаторного механизма [1,3].

Изменения на этом уровне, происходящие в первые часы, дни внеутробного существования, реализуются в дальнейшем в различные патологические состояния ЦНС [4].

В этой связи важное значение приобретает выявление наиболее информативных биохимических показателей для ранней диагностики перинатального поражения ЦНС. Это позволит не только снизить частоту и тяжесть течения заболевания, но и объективно оценить эффективность проводимой терапии.

Цель исследования - определить клинико-диагностическое значение пероксинитрита и мозгового нейротрофического фактора в развитии перинатальных поражений центральной нервной системы у новорожденных.

## Материалы и методы

Проспективно проведено изучение клинического состояния 67 детей. Все новорожденные были разделены на 4 группы. 1 группу составили 15 новорожденных с отсроченной манифестацией перинатального поражения ЦНС (ПП ЦНС). Во 2 группу вошли 19 детей с церебральной ишемией (ЦИ) I степени, в 3 группу – 18 новорожденных с ЦИ II-III степени. Контрольную (4) группу составили 15 здоровых новорожденных, родившихся у женщин с физиологическим течением беременности и родов. Критериями для включения в исследование являлись: гестационный возраст не менее 38 недель; масса тела при рождении

не менее 2500 граммов; отсутствие клинических признаков бактериального инфицирования и наследственной патологии (синдром Дауна и другие). Наряду с этим проводили анализ данных материнского анамнеза и состояния ребенка после рождения. При оценке поражения ЦНС использовали классификацию, утвержденную МЗ РФ в 2007 году.

Материалом для исследования служила сыворотка крови, полученная путем центрифугирования. Забор крови осуществлялся в первые сутки (пуповинная кровь) и в возрасте 1 и 3 месяцев жизни. Концентрацию пероксинитрита (ONOO-) определяли методом спектрофотометрии. Определение содержания мозгового нейротрофического фактора (МНТФ) в сыворотке крови новорожденных иммуноферментной тест-системой сэндвичевого типа R&D (США).

Нейросонографическое исследование структур головного мозга проводили на аппарате ультразвуковой диагностики «Sim 5000 Plus» с секторальным датчиком мощностью 5 мГц. Ультразвуковое сканирование проводили по общепринятой методике (через большой родничок) в раннем неонатальном периоде и в динамике наблюдения.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы «Statistica-6» с применением основных методов описательной статистики и непараметрических методов (определение различий между сравниваемыми группами с применением U-критерия Манна-Уитни и критерия Вилкоксона).

## Результаты

Проведенный анализ показал, что большинство детей родились у женщин с соматической патологией и отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом. У половины женщин были диагностированы отклонения от нормального течения беременности. Среди осложнений беременности чаще регистрировали плацентарную недостаточность, хроническую гипоксию плода, угрозу прерывания беременности.

При ультразвуковом сканировании головного мозга как в раннем неонатальном периоде, так и в динамике наблюдения отмечались гиперэхогенность и неоднородность сосудистых сплетений (41,3%), неоднородность эхогенности паренхимы мозга (34,8%), наличие субэпендимальных псевдокист (39,1%), расширение межполушарной щели (34,8%), расширение желудочков, преимущественно у детей 3 группы (34,8%).

Неврологическая симптоматика у пациентов 1 группы отсутствовала в раннем неонатальном периоде и появлялась отсрочено в возрасте 1-2 месяцев жизни. Чаще она характеризовалась развитием синдрома вегето-висцеральных нарушений (30,2%), синдрома повышенной нервно-рефлекторной возбудимости (47,2%). Во 2 группе неврологическая симптоматика выявлялась к 2-3 суткам жизни и сохранялась в той или иной степени в течение всего периода наблюдения. В большем проценте случаев отмечались проявления синдрома пирамидной недостаточности (29,6%), синдрома мышечной гипотонии или дистонии (31,7%), гипертензионно-гидроцефального синдрома (38,3%). У новорожденных 3 группы клинические проявления ПП ЦНС имели место уже к концу 1 суток жизни. Чаще отмечались судорожные состояния (27,8%) и синдром угнетения (39,4%).



Показатели пероксинитрита (ONOO-) в сыворотке крови у детей обследованных групп отражены в таблице 1. Так, у новорождённых 3 группы с проявлениями ЦИ II-III степени тяжести сывороточная концентрация ONOO- была достоверно выше показателей контрольной группы ( $p < 0,05$ ). У детей 2 группы с ЦИ I степени в возрасте 3-х месяцев отмечалось статистически достоверное увеличение содержания пероксинитрита в сыворотке крови по сравнению с данными контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

Таблица 1.

**Содержание пероксинитрита в сыворотке крови детей с перинатальным поражением ЦНС с учётом сроков возникновения и тяжести церебральных нарушений (медиана, нижний-верхний квартили нмоль\мг)**

| Сроки наблюдения | 1 группа (n=15)           | 2 группа (n= 19)          | 3 группа (n= 18)          | Контрольная группа (n= 15) | p I-II | p I-III | p II-III | p 0-1 | p 0-2 | p 0-3 |
|------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|--------|---------|----------|-------|-------|-------|
| При рождении     | 109,52<br>(73,21-132,14)  | 114,88<br>(98,81-150,60)  | 146,73<br>(115,48-171,43) | 100,7<br>(85,22-137,54)    | >0,05  | <0,05   | >0,05    | >0,05 | >0,05 | <0,05 |
| 1 месяц          | 143,75<br>(119,94-183,04) | 152,98<br>(122,62-189,29) | 122,02<br>(91,07-135,71)  | 112,3<br>(99,4-131,55)     | >0,05  | >0,05   | <0,05    | >0,05 | >0,05 | >0,05 |
| 3 месяца         | 102,09<br>(93,37-130,06)  | 186,9<br>(152,38-213,10)  | 122,62<br>(75,60-186,31)  | 109,7 (94,86-127,62)       | <0,05  | >0,05   | >0,05    | >0,05 | <0,05 | >0,05 |
| P1               | <0,05                     | <0,05                     | >0,05                     | >0,05                      | -      | -       | -        | -     | -     | -     |
| P2               | >0,05                     | <0,05                     | >0,05                     | >0,05                      | -      | -       | -        | -     | -     | -     |
| P3               | >0,05                     | >0,05                     | >0,05                     | >0,05                      | -      | -       | -        | -     | -     | -     |

Примечание к табл. 1 и 2:

p I-II – статистически обоснованные различия между 1 и 2 группами;

p I-III – статистически обоснованные различия между 1 и 3 группами;

pII-III – статистически обоснованные различия между 2 и 3 группами.

p 0-1 – статистически обоснованные различия между контрольной и 1 группами;

p 0-2 – статистически обоснованные различия между контрольной и 2 группами;

p 0-3 – статистически обоснованные различия между контрольной и 3 группами.

P1 – статистически обоснованные различия между показателями крови пуповины и в 1 месяц;

P2 – статистически обоснованные различия между показателями крови пуповины и в 3 месяца;

P3 – статистически обоснованные различия между показателями в 1 месяц и 3 месяца.

У новорожденных 1 группы сывороточная концентрация ONOO- оказалась значительно ниже по отношению к показателям 3 группы ( $p < 0,05$ ). Максимальные значения ONOO- обнаружены в крови у пациентов с ЦИ I степени в возрасте 1 месяца жизни. Эти показатели достоверно отличались от результатов, полученных у детей с ЦИ II-III степени (3 группа). Следует отметить, что у детей 2 группы в возрасте 3-х месяцев жизни величина сывороточной концентрации ONOO- была значительно выше по сравнению с I группой ( $p < 0,05$ ), но не отличалась от значений у пациентов 3 группы.

Наблюдение в динамике показало, что у детей 1 группы показатели ONOO- существенно увеличивались в возрасте 1 месяца (по сравнению с показателями крови пуповины), а в 3 месяца жизни приближались к исходным. У детей 2 группы в возрасте 1 месяца жизни отмечался рост концентрации ONOO- по сравнению с показателями крови пуповины ( $p < 0,05$ ), достигая максимума в 3 месяца жизни ( $p < 0,05$ ). В динамике наблюдения у детей 3 группы отличий не выявлено как в 1, так и в 3 месяца жизни.

Показатели сывороточной концентрации МНТФ у наблюдаемых детей с учетом сроков возникновения перинатального поражения ЦНС и тяжести церебральной патологии отражены в таблице 2.

Анализ показателей сывороточной концентрации МНТФ показал, что у новорожденных 1 и 3 групп значения МНТФ были достоверно выше контрольных значений, в то же время у новорожденных с ЦИ I степени они не отличались от нормальных значений. При этом в возрасте 1 и 3-х месяцев во всех группах имело место достоверное увеличение концентрации МНТФ в сыворотке крови по сравнению со здоровыми детьми.

В динамике наблюдения к 3 месяцам жизни уровень МНТФ достоверно повышался в каждой группе наблюдаемых детей по сравнению с исходными данными. При этом максимальное увеличение концентрации нейротрофина отмечалось у детей с отсроченной манифестацией ПП ЦНС. В этой же группе имелись достоверные отличия в показателях МНТФ в возрасте 1 и 3-х месяцев жизни, в то время как у детей с ЦИ I и ЦИ II- III степени различий не выявлено.



Таблица 2.

**Содержание мозгового нейротрофического фактора (МНТФ) в сыворотке крови детей с перинатальным поражением ЦНС с учётом сроков возникновения и тяжести церебральных нарушений (медиана, нижний-верхний квартили пг/мл)**

| Сроки наблюдения | 1 группа (n=15)              | 2 группа (n=19)              | 3 группа (n=18)              | Контроль-ная группа (n=15)   | p I-II | p I-III | p II-III | p0-1  | p0-2  | p0-3  |
|------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------|---------|----------|-------|-------|-------|
| 1 часы           | 15000,0<br>(10890,0-20370,0) | 13810,0<br>(10940,0-15592,0) | 16250,0<br>(12030,0-20190,0) | 12300,0<br>(10720,0-13330,0) | >0,05  | >0,05   | <0,05    | <0,05 | >0,05 | <0,05 |
| 1 месяц          | 18870,0<br>(16780,0-21200,0) | 16765,0<br>(15860,0-20590,0) | 20370,0<br>(15415,0-24440,0) | 11220,0<br>(10560,0-11800,0) | >0,05  | >0,05   | >0,05    | <0,05 | <0,05 | <0,05 |
| 3 месяца         | 21380,0<br>(18300,0-24490,0) | 18400,0<br>(15971,0-23830,0) | 19825,0<br>(15975,0-27220,0) | 11220,0<br>(10560,0-11800,0) | >0,05  | >0,05   | >0,05    | <0,05 | <0,05 | <0,05 |
| P1               | <0,05                        | <0,05                        | <0,05                        | >0,05                        | -      | -       | -        | -     | -     | -     |
| P2               | <0,05                        | <0,05                        | <0,05                        | >0,05                        | -      | -       | -        | -     | -     | -     |
| P3               | <0,05                        | >0,05                        | >0,05                        | >0,05                        | -      | -       | -        | -     | -     | -     |

См. Примечание к табл. 1

### Обсуждение

В результате проведенного исследования выявлены существенные изменения в продукции пероксинитрита у детей с церебральной патологией. Так при рождении высокое содержание пероксинитрита в крови пуповины имело место у новорожденных со II и III степенью ишемии, в то время как в возрасте 1 месяца этот показатель был больше у пациентов с I степенью ишемии, чем со II и III степенью ишемии в 3-х месячном возрасте, когда уровень ONOO- оказался выше относительно данных у детей с угрозой развития ПП ЦНС.

Обращает на себя внимание тот факт, что наиболее значимые изменения в содержании ONOO- обнаружены у детей 2 группы в 3-х месячном возрасте. Отклонения в продукции пероксинитрита в сыворотке крови детей данной группы является подтверждением метаболических нарушений, развивающихся к этому возрасту [5].

Следует отметить, что выявленное повышение ONOO- у новорожденных 3 группы (ЦИ II и III степени) в крови пуповины сочеталось с более тяжелыми клиническими проявлениями перинатального поражения центральной нервной системы. У пациентов с легкой степенью ЦИ при рождении отмечено нормальное содержание пероксинитрита, при этом клинические проявления перинатального поражения ЦНС были минимальны. Однако, в возрасте 3-х месяцев у данных детей этот показатель оказался повышенным относительно данных как 1, так и 3 групп.

Ранее был разработан «Способ прогнозирования степени тяжести гипоксического перинатального поражения ЦНС у новорожденных» по уровню концентрации пероксинитрита в сыворотке крови пуповины. Так, если его величина составит 133,6-258,0 нмоль/л - прогнозируют среднюю степень тяжести гипоксического поражения ЦНС, а при 259,0 нмоль/л и выше – тяжелую степень. Точность заявляемого способа составляет 73%. Чувствительность – 71,4%, специфичность – 75% [6].

Проведенный анализ динамики содержания МНТФ в сыворотке крови у детей выявил повышение его значений,

достоверно отличающихся от контрольных данных, во всех трех группах (с отсроченной манифестацией перинатального поражения мозга, с церебральной ишемией I степени и с церебральной ишемией II-III степени) в течение всего 3-х месячного срока наблюдения, за исключением нормальных значений этого показателя в пуповинной крови у детей 2 группы с ЦИ I степени. В динамике наблюдения в показателях концентрации МНТФ в сыворотке крови у всех наблюдаемых больных, перенесших перинатальное поражение мозга, отмечалось достоверное повышение его уровня в возрасте 1 и 3 месяцев жизни относительно исходных данных, при этом у детей с ЦИ I и II- III степени (2 и 3 группы соответственно) в 3-х месячном возрасте значения данных показателей практически не отличались от таковых в возрасте 1 месяца ( $p=0,500845$  и  $p=0,196973$  соответственно). Следует отметить, что максимальное увеличение нейротрофина (в 1,5 раза) по сравнению с исходными данными отмечено в 1 группе у детей с отсроченной манифестацией гипоксического ПП ЦНС. Возможно, это связано, с одной стороны, с прогрессивным характером течением заболевания, когда патологический процесс распространяется и на соседние нейроны, что приводит к повышению нагрузки на нервную клетку и ведет за собой стимуляцию синтеза нейротрофинов [3]. С другой стороны - до появления клинической симптоматики ПП ЦНС (1- 2 месяца жизни) эти дети не получали какую-либо терапию, в отличие от детей 2 и 3 групп. Именно в этот период назначение адекватной патогенетической терапии имеет наибольший эффект для восстановления функций поврежденных нейронов головного мозга.

При этом обращает на себя внимание отсутствие достоверно значимых различий в содержании МНТФ между клиническими группами в каждый возрастной период, за исключением показателей пуповинной крови пациентов 2 группы. Они достоверно отличались только от показателей МНТФ у детей с проявлениями ЦИ II-III степени на протяжении всего 3-х месячного периода наблюдения.

Полученные результаты убедительно свидетельствуют о том, что у всех наблюдаемых детей, перенесших пери-





натальное гипоксически-ишемическое поражение ЦНС, имеет место активация выработки нейротрофического фактора (МНТФ) на протяжении всего 3-х месячного периода наблюдения по сравнению с контролем, при этом у детей во всех группах имело место достоверное повышение уровня мозгового нейротрофического фактора к 1-3 месяцам жизни относительно исходных данных. Это подтверждает предположение, что при гипоксически-ишемическом повреждении нервных клеток выработка нейротрофинов увеличивается по типу адаптивного компенсаторного механизма.

### Заключение

У детей с перинатальными поражениями ЦНС выявлено в сыворотке крови достоверное повышение пероксинитрита, обладающего выраженными оксидантными

свойствами и способного повреждать нейроны головного мозга.

Постепенное увеличение показателей нейротрофина в динамике наблюдения свидетельствуют о повышении синтеза трофических факторов, активации компенсаторных механизмов, что отражает онтогенетические особенности нервной системы новорожденного – повышенную потребность в нейротрофическом обеспечении необходимых для роста и созревания нейронов, установления синаптических контактов, процессов миелинизации нервных волокон [3, 7].

Предлагаемый иммунобиохимический мониторинг изменений в продукции фактора нейротоксичности (пероксинитрита) и фактора нейропротекции (МНТФ) на ранних этапах развития церебральной патологии позволяет определять степень тяжести заболевания и эффективность проводимой терапии.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Голосная Г.С. Нейрохимические аспекты патогенеза гипоксических поражений мозга у новорожденных. – М.: ИД «Медпрактика-М», 2009. – 128 с.
2. Степура Т.П., Зинчук В.В. Влияние нитрозоцистеина на кислородсвязывающие свойства крови //Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – 2012. - №2. - С. 83-86.
3. Гомазков О.А. Нейротрофическая регуляция и стволовые клетки мозга. – М.: Издательство Икар, 2006. – 332 с.
4. Созаева Д. И., Бережанская С. Б., Уровень нейротрофического обеспечения у новорождённых с церебральной ишемией //IX Российский конгресс. Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии. Материалы конгресса. – Москва, 2010, – с. 209.
5. Патент РФ № 2463603, 10.10.2012.
6. Афонин А.А., Логинова И.Г., Друккер Н.А. Роль оксида азота и пероксинитрита в развитии перинатальных гипоксически-ишемических поражений ЦНС у новорождённых детей //Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 2. URL:<http://www.science-education.ru/108-8638> (Дата обращения: 20.07.2013)
7. Одинак М.М., Цыган Н.В. Факторы роста нервной ткани в центральной нервной системе. – СПб.: Наука, 2005. – 157 с.

ПОСТУПИЛА 26.07.2013

УДК 618.14:618.36+618.2-293

Т.Л. Боташева, В.А. Линде, Н.В. Ермолова, О.Д. Саргсян, Н.А. Рогова

## ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ СОСУДИСТО-ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА ПЛОДА

*Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии  
Россия, 344012 г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова 43. E-mail:secretary@rniiar.ru*

Цель: изучение особенностей системы сосудисто-эндотелиальных факторов роста в динамике физиологической беременности в зависимости от пола плода.

Материалы и методы: обследовано 107 женщин с физиологическим течением беременности, из них 52 женщины с плодами мужского пола, 55 - с плодами женского пола. Исследовали уровень сосудисто-эндотелиальный фактор роста, фактор роста плаценты, ЭФР, эндотелин-1 и ФНО-α во I, II и III триместрах в зависимости от фактора «пол плода».

Результаты: выявлены достоверные различия этих показателей у беременных, вынашивающих мальчиков и девочек в зависимости от срока гестации. Установлены достоверные отличия в функционировании системы сосудисто-эндо-