

Социальные аспекты здоровья населения, 2007; 4. Vestnik.mednet.ru/content/view/46/30.

7. *Виноградова И.В., Самойлова А.В.* Снижение неонатальной смертности как итог организационной деятельности службы родовспоможения и детства. Здравоохранение Чувашии. 2011; 1: 34–38.

8. *Бубнова Н.И., Тютюнник В.Л., Михайлова О.И.* Репродуктивные потери при декомпенсированной форме плацентарной недостаточности, вызванной инфекцией. Акушерство и гинекология. 2010; 4: 55–58.

9. *El Shahed AI, Dargaville PA, Ohlsson A, Soll R.* Surfactant for meconium aspiration syndrome in full term/near term infants. Cochrane, 2007 Database Syst. Rev. Jul.18; 3: CD002054.

10. *Фатыхова А.И., Викторов В.В., Абдуллина Г.М., Гильмияров Р.Н., Скляр Н.Р., Шестопалов А.А.* Тактика ведения новорожденных с тяжелым повреждением легких в ОРПН. Материалы 26-й международной научно-практической конференции «Современная медицина: актуальные вопросы». Новосибирск: Изд. «СибАК», 2013: 78–84.

11. *Dargaville PA, Cornell B.* The epidemiology of meconium aspiration syndrome: incidence, risk factors, therapies, and outcome. Pediatrics. 2006; 117: 1712–1721.

12. *Pardue J, Moulden M, Redman G.W.G.* Risk factors for meconium aspiration syndrome. Am. J. Obstet. Gynecol. 2002; 186: 1095–1103.

13. *Овсянников Д.Ю., Бойцова Е.В., Беляшова М.А., Ашерова И.К.* Интерстициальные заболевания легких у младенцев. М.: РУДН, 2014: 182 с.

14. Современные подходы к профилактике, диагностике и лечению бронхолегочной дисплазии: руководство для практических врачей (Союз педиатров России, ФГБУ «Научный центр здоровья детей» РАМН). А.А. Баранов, ред. М.: ПедиатрЪ, 2013: 176 с.

15. *Черняховский О.Б., Абрамова И.В., Поляничкова О.Л.* Внутриутробные инфекции у новорожденных, факторы риска. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2009; 1: 80–88.

16. *Aimakhu C, Olayemi O, Enabor O, et al.* Meconium and fetal-neonatal compromise. West Afr. J. Med. 2003; 22 (3): 222–224.

17. *Брыксина Е.Ю.* Дисфункция верхних отделов желудочно-кишечного тракта у новорожденных в аспекте взаимосвязи с микроаспирацией желудочного содержимого. Неонатология. 2014; 4: 48–54.

18. *Ковалев В.В., Цывьян П.Б.* Патологические основы ультразвукового мониторинга состояния плода при синдроме задержки его развития. Акушерство и гинекология. 2010; 1: 11–15.

19. *Иванов Д.О., Евтюков Г.М.* Интенсивная терапия и транспортировка новорожденных детей 2-е изд. СПб.: Человек, 2009: 612 с.

20. *Коханевич Е.В.* Актуальные вопросы акушерства, гинекологии и репродукции. Е.В. Коханевич, ред. М.: Триада-Х, 2006: 480 с.

21. *Шарапова О.В.* Основные направления деятельности службы охраны «материнства и детства». Педиатрия. 2004; 83 (5): 6–13:

© Коллектив авторов, 2015

*G.S. Golosnaya¹, A.V. Yakovleva², A.V. Zaplatnikov³, E.N. Dyakonova⁴, K.V. Voronkova⁵,
L.V. Filyakova⁶, V.M. Trepilets⁷, E.V. Shnitkova⁸*

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ И ПРОАПОПТОТИЧЕСКИХ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У НОВОРОЖДЕННЫХ С ОСТРОЙ АСФИКСИЕЙ

¹ГКБ № 13 акушерский филиал № 1, Москва; ²ФГУ ЦКБП УД Президента РФ, Москва; ³ГБОУ ДПО РМАПО, Москва; ⁴кафедра неврологии и нейрохирургии ИМО, г. Иваново; ⁵кафедра педиатрии лечебного факультета ИМО, г. Иваново; ⁶кафедра неонатологии ФДПО ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва; ⁷Перинатальный центр, г. Видное, Московская область; ⁸НПЦ детской психоневрологии, Москва, РФ

*G.S. Golosnaya¹, A.V. Yakovleva², A.V. Zaplatnikov³, E.N. Dyakonova⁴, K.V. Voronkova⁵,
L.V. Filyakova⁶, V.M. Trepilets⁷, E.V. Shnitkova⁸*

NEUROTROPHIC AND PRO-APOPTOTIC CYTOKINES DYNAMICS IN SERUM OF NEWBORNS WITH ACUTE ASPHYXIA

¹City Clinical Hospital № 13 Obstetrical branch № 1, Moscow; ²Central Clinical Hospital of President of the Russian Federation Administration, Moscow; ³Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow; ⁴Neurology and Neurosurgery Department, Institute of Medical Education, Ivanovo; ⁵Pediatrics Department, Therapeutics Faculty, Institute of Medical Education, Ivanovo; ⁶Neonatology Department, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow; ⁷Perinatal Center, Vidnoe, Moscow region; ⁸Scientific-Practical Center of Pediatric Psychoneurology, Moscow, Russia

Контактная информация:

Голосная Галина Станиславовна – д.м.н., доц., врач-невролог отделения реанимации новорожденных ГКБ № 13 акушерский филиал № 1
Адрес: Россия, 115280, г. Москва, ул. Шарикоподшипниковская, 3
Тел.: (916) 113-40-77, **E-mail:** ggolosnaya@yandex.ru
Статья поступила 19.10.15, принята к печати 18.12.15.

Contact Information:

Golosnaya Galina Stanislavovna – Ph.D., associate professor, neurologist of newborns resuscitation, City Clinical Hospital № 13 Obstetrical branch № 1
Address: Russia, 115280, Moscow, Sharikopodshipnikovskaya str., 3
Tel.: (916) 113-40-77, **E-mail:** ggolosnaya@yandex.ru
Received on Oct. 19, 2015, submitted for publication on Dec. 18, 2015.

Целью работы было изучение концентрации в сыворотке крови при различной степени тяжести асфиксии в родах маркеров поражения ЦНС: S-100, BDNF, VEGF, ALCAM, DR5. Обследованы 120 новорожденных. Дети были разделены на 2 группы: новорожденные, перенесшие в родах острую тяжелую асфиксию и асфиксию умеренной степени. В результате исследования выявлено, что при тяжелой степени асфиксии в родах у новорожденных сразу после рождения (в первые 48 ч) значительно возрастает уровень S-100, ALCAM, DR5. Это может быть использовано для ранней диагностики негативного прогноза. Уровень трофического фактора BDNF в случае острой тяжелой асфиксии снижался. Изучение нейротрофинов, факторов роста и маркеров апоптоза открывает дополнительные возможности для исследования постгипоксических изменений и восстановительных процессов ЦНС.

Ключевые слова: новорожденный, асфиксия, S-100, BDNF, VEGF, ALCAM, DR5.

Objective of the research – to study concentrations in serum at various severity of intranatal asphyxia CNS damage markers: S-100, BDNF, VEGF, ALCAM, DR5. The study included 120 newborns. They were divided into 2 groups: newborns with acute intranatal severe asphyxia and with moderate asphyxia. The study revealed that at severe intranatal asphyxia soon after birth (within 48 hours) the level of S-100, ALCAM, DR5 in newborns considerably increases. It can be used for early diagnosis of poor prognosis. The level of BDNF trophic factor in case of acute severe asphyxia declined. The study of neurotrophins, growth factors and apoptosis markers gives additional possibilities to study posthypoxic changes and CNS recovery processes.

Keywords: newborn, asphyxia, S-100, BDNF, VEGF, ALCAM, DR5.

За последние 10 лет получено много новых данных о патогенезе гипоксического перинатального поражения ЦНС, его молекулярных и биологических основах [1–4].

Одной из самых актуальных проблем в перинатальной неврологии являются ранняя диагностика и определение прогноза состояния у детей группы риска по развитию тяжелых гипоксических поражений ЦНС [5–7]. Уже доказано, что смерть клеток при гипоксии происходит не только по типу некротического поражения, но и в связи с развитием апоптоза клеток, который в свою очередь угнетается и индуцируется факторами специфической и неспецифической защиты [8–14].

В связи с этим большой интерес представляет изучение этих факторов у новорожденных с асфиксией, особенно в острый период, сразу после рождения. Все вышеперечисленное определяет актуальность настоящей работы, ее цели и задачи.

Целью работы были изучение концентрации в сыворотке крови BDNF, S-100, VEGF, ALCAM, а также уровня маркера апоптоза DR5 и определение их диагностической значимости у новорожденных с асфиксией.

Кратко характеризуя исследуемые цитокины, необходимо отметить, что одним из представителей группы S-100 является S-100 β – наиболее специфичный белок мозговой ткани. Известно, что при деструкции мозговой ткани S-100 β наряду с другими белками этой группы может обнаруживаться в крови и цереброспинальной жидкости больных. Белок S-100 β представляет особый интерес в связи с недавним выявлением у него нейроростовых и нейротрофических свойств. Установлено, что добавление малых доз S-100 β в нейрональную культуру обеспечивает поддержание жизнеспособности нейронов, воз-

можность образования и роста аксонов, тогда как в контрольных культурах нервные клетки не выживают [15–19]. Таким образом, изучение динамики сывороточной концентрации белка S-100 у новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением мозга как раннего маркера повреждения нервной ткани представляет научный интерес.

Факторы роста поддерживают жизнь нейронов, которые в их отсутствии не могут существовать [20, 21]. Трофическая дисрегуляция является одной из универсальных составляющих патогенеза повреждения нервной системы. При лишении трофической поддержки зрелых клеток развивается биохимическая и функциональная дедифференциация нейронов с изменениями свойств иннервируемых тканей. В развивающемся организме нейротрофический фактор головного мозга (BDNF – brain derived neurotrophic factor) синтезируется клеткой-мишенью (например, мышечным веретеном), диффундирует по направлению к нейрону, связывается с молекулами рецепторов на его поверхности, что приводит к активному росту аксона. В результате аксон достигает клетки-мишени, устанавливая с ней синаптический контакт. Экспериментальные исследования, проведенные на лабораторных животных, доказывают важность нейротрофических факторов в развитии тяжелых ишемических процессов, а также показывают корреляцию уровня нейротрофинов с восстановлением утраченных функций [22, 23].

Васкулоэндотелиальный фактор (Vascular Endothelial Growth Factor – VEGF-A) – гетеродимерный гликопротеиновый ростовой фактор, продуцируемый различными типами клеток. VEGF участвует в развитии и функционировании сосудистой системы во время эмбриогенеза и в постнатальном развитии. Неоваскуляризация

является благоприятным признаком, позволяющим прогнозировать улучшение процессов восстановления [24–26]. Из способности VEGF воздействовать на проницаемость сосудов следует возможность вовлечения этого ростового фактора в изменение функций гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) в субнормальных и патологических условиях [27].

У новорожденных детей VEGF изучен, выявлена его взаимосвязь с гипоксическими изменениями ЦНС при различных сроках гестации у новорожденных, но данные по острой асфиксии не опубликованы. Этот аспект важен еще и потому, что VEGF связан с нейротрофическими факторами (находятся в синергическом взаимодействии) и является ингибитором процессов апоптоза, что имеет важное значение при гипоксических поражениях ЦНС.

Термин «апоптоз» (от греч. *apo* – полное, *ptosis* – падение, утрата) впервые был предложен в 1972 г. для обозначения генетически обусловленного процесса разрушения клетки, который характеризуется ее сжатием, агрегацией хроматина и деструкцией клеточного ядра. Концепция апоптоза как явления «запрограммированной» гибели клеток приобретает в последнее время все больше фактов и вариантов ее приложения к базовым вопросам современной медицины. Механизмы апоптоза включаются позднее быстрых реакций некротических каскадов – как минимум спустя 1–2 ч после начала ишемии, начинают проявлять себя в полной мере через 12 ч и достигают максимума активности на 2–3-и сутки. Апоптоз, наряду с другими отдаленными последствиями ишемии, вносит свой вклад в расширение объема и глубины очагов повреждения мозговой ткани. При тяжелых гипоксических поражениях ЦНС развивается некроз клеток, при поражениях меньшей тяжести смерть клеток преимущественно происходит по типу апоптоза. Новым направлением в исследовании нейротрофических факторов стало определение их роли в регуляции апоптоза. Факты, демонстрирующие значимость нейротрофических факторов в нормальной и патологической деятельности мозга, отражают организацию поливариантной системы химической регуляции, обеспечивающей как жизнеспособность и защиту нейронов от неблагоприятных влияний, так и программируемую гибель определенной части клеточной популяции в случае повреждения мозга. Количественное определение маркера апоптоза DR5 – «рецептора смерти» – затруднено во времени, максимальные значения в эксперименте определялись от 12 до 48 ч эпизода острой асфиксии.

Немаловажная роль принадлежит нейротрофическим ростовым полипептидам (фактору опухолевого роста, трансформирующему ростовому фактору, фактору роста фибробластов, VEGF, инсулиноподобному фактору роста и др.), а также специфическим белкам клеточной адгезии и мембранного взаимодействия – интегринам и селектинам [28, 29]. В связи с тем, что регу-

ляторные пептиды и нейротрофические ростовые факторы могут выполнять функцию как проапоптотических (индуцирующих), так и антиапоптотических агентов, их соотношение играет ключевую роль в стадийном формировании необратимых повреждений миоцитов, эндотелиальных и васкулярных клеток. Рассматривая проблему апоптоза как сложный биологический и патохимический феномен, можно определить, что как нейротрофические факторы, так и нейротрофические факторы представляют пример участия в поливариантной системе контроля функций на всех «этажах» физиолого-биохимической организации [30–32].

Пути реализации программы апоптоза разнообразны и зависят как от индивидуальных особенностей клеток, так и от характера и степени выраженности внешних и внутренних воздействий, вызывающих ее включение. Торможение апоптоза в результате нарушений его эффекторных механизмов и путей передачи проапоптотических сигналов является малоизученной, но не менее важной проблемой.

Молекулы клеточной адгезии (МКА) – это связанные с плазматической мембраной белки, которые обеспечивают механическое взаимодействие клеток друг с другом. С их помощью клетки при движении могут «подтягиваться» к другим клеткам или перемещаться по внеклеточному матриксу. На ранней стадии микроциркуляторно-клеточных нарушений (6–72 ч после развития ишемии тканей) активно формируется цитотоксический отек. Глиальные клетки, увеличиваясь в объеме, теснят близлежащие структуры, сдавливают микроциркуляторное русло, продолжается миграция лейкоцитов в ишемизированную ткань мозга, максимум отмечается через 24–72 ч. Лейкоцитарная реакция ослабляется к 7-м суткам. Характерно резкое повышение продукции лейкоцитами и эндотелиальными клетками множества токсичных соединений. МКА играют в этом временном промежутке важную роль. Они усиливают адгезию лейкоцитов к эндотелию сосудов, создавая дополнительную окклюзию и поддерживая воспаление [33–35]. Изучена взаимосвязь МКА в функционировании зародышевого матрикса и связь МКА, в частности ALCAM (Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule – активированной молекулы лейкоцитарной клеточной адгезии), с факторами сосудистой индукции. Исследование МКА с учетом роли лейкоцитов в развитии локальной воспалительной реакции в очаге ишемии, а также в возникновении клеточно-микроциркуляторных нарушений у новорожденных представляет практический интерес [36].

Материалы и методы исследования

Все методики для определения уровня в сыворотке крови исследуемых цитокинов (S-100, BDNF, VEGF, DR5, ALCAM) основаны на принципе количественного твердофазного иммуноферментного анализа сэндвичевого типа (ELISA – Enzyme Linked-Immuno-

Sorbent Assay). Проведение анализа проводили по стандартному протоколу, приводимому в инструкции фирмы-производителя.

Образцы крови отбирали из пупочной вены при рождении, а в последующие сроки – путем аспирации из катетеров (пупочный, подключичный, транскутанный) в объеме 0,3–1 мл.

Определение содержания белка S-100 проводили с использованием реактивов фирмы CanAg (Швеция) на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки жизни. Концентрацию белка BDNF определяли, применяя реактивы фирмы R&D (Англия) дважды: в первые 48 ч жизни и на 3–5-е сутки жизни. При проведении исследования концентрации белков VEGF и DR5 в сыворотке крови применяли реактивы фирмы «Biosource» (Бельгия). VEGF в сыворотке крови определяли в 1–2-е сутки жизни (24–48 ч), на 7-е и 28-е сутки. Для определения уровня проапоптотического фактора DR5 в сыворотке крови проводили только одну пробу крови в интервале 24–48 ч жизни, когда уровень антигена в сыворотке крови соответствует максимуму активности процессов апоптоза. Для определения уровня МКА (ALCAM) применяли реактивы фирмы R&D (Англия). Пробы крови проводили трижды: в возрасте до 48 ч жизни, на 5–7-е и 12–14-е сутки жизни.

Ультразвуковое сканирование головного мозга (нейросонография – НСГ) проводили в течение всего времени наблюдения за ребенком с первых суток поступления в стационар (в среднем 1 раз в 5–7 дней, при необходимости – ежедневно).

Статистический анализ данных выполнен с применением пакета Statistica 5.0. Группы обследованных новорожденных сравнивали между собой с использованием дисперсионного анализа (тест множественного сравнения средних ANOVA, с последующим сравнением групп по методу Манна–Уитни), внутри группы сравнение переменных производили знаково-ранговым методом Вилкоксона. Корреляционную зависимость вычисляли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (R).

Под нашим наблюдением находились 120 новорожденных детей с гестационным возрастом (ГВ) от 25 до 42 недель, массой тела при рождении от 890 до 4630 г. Мальчиков – 78, девочек – 42. Новорожденные были разделены на основную группу – дети с асфиксией при рождении (90 новорожденных) и контрольную группу (30 новорожденных), которая была представлена здоровыми доношенными детьми (15 детей), а также недоношенными детьми без поражения ЦНС (15 детей). Взятие проб крови у детей контрольной группы осуществляли при

проведении необходимых анализов в стационаре по показаниям (биохимические анализы, общий анализ крови). В контрольной группе у новорожденных без поражения ЦНС не было выявлено достоверных различий исследуемых антигенов в зависимости от ГВ, а также времени определения (табл. 1).

Таблица 1

Концентрация исследуемых факторов у детей контрольной группы

Исследуемые факторы	Средние значения (M±SD)	max–min
S-100, мкг/л	0,21±0,08	0,18–0,3
BDNF, мкг/л	2,5±1,7	1–3,9
VEGF, мкг/л	193,47±59,03	122–400
ALCAM, мкг/л	0,036±0,015	0,018–0,06
DR5, мкг/л	4,1±0,9	1,2–8,67

Соответственно поставленной цели исследования проводили разделение на группы с использованием результатов оценки тяжести состояния при рождении по шкале Апгар на 1-й минуте жизни, являющейся основным критерием оценки острой асфиксии при рождении.

Всего были сформированы 2 группы с учетом оценки по шкале Апгар на 1-й минуте жизни: 1-я группа с оценкой на 1-й минуте 1–4 балла; 2-я группа с оценкой на 1-й минуте 5–7 баллов (табл. 2). В 1-ю группу вошли 74 новорожденных с ГВ от 26 до 42 недель и средней массой тела при рождении 2332±350 г (M±SD) (интервал от 900 до 3600 г). Оценка по шкале Апгар на 1-й минуте жизни составила в среднем 2,6±0,8 баллов (M±SD) (интервал колебаний от 1 до 4 баллов), на 5-й минуте – 5,14±0,6 баллов (M±SD) (интервал от 5 до 7 баллов). Мальчиков в группе было 49, девочек – 25.

Состояние детей 1-й группы при первичном осмотре в родильном доме расценено как тяжелое в 71 случае (95,9%) и в 3 (4,1%) случаях – как среднетяжелое. Тяжесть состояния при рождении была обусловлена неврологической симптоматикой, выраженными расстройствами дыхания и гемодинамики на фоне интранатальной гипоксии, морфофункциональной незрелости, внутриутробной гипотрофии I–II степени – 29 детей (39,2%) и III степени – 8 (10,8%).

Гипоксически-ишемическое поражение ЦНС III степени было выявлено у 28 новорожденных (37,8%), II степени – у 45 детей (60,8%),

Таблица 2

Распределение обследованных детей на группы с учетом оценки по шкале Апгар на 1-й минуте после рождения

Группы детей	Оценка по шкале Апгар на 1-й минуте, баллы	Количество детей	Средняя оценка по шкале Апгар, баллы (M±SD)	Средняя масса тела при рождении, г (M±SD)
1-я	1–4	74	2,6±0,8	2332±350
2-я	5–7	16	6,45±0,2	2467±360

Динамика уровня белка S-100 в сыворотке крови детей в зависимости от тяжести состояния при рождении (оценка по шкале Апгар на 1-й минуте жизни)

Сроки исследования	S-100, мкг/л		
	1-я группа (оценка по шкале Апгар 0–4 балла)	2-я группа (оценка по шкале Апгар 5–7 баллов)	контрольная группа
1-е сутки	2,49±0,8*,**	1,14±0,27*,**	0,21±0,08
3-и сутки	1,87±0,54*,**	0,89±0,16*,**	0,20±0,02
7-е сутки	1,39±0,27*,**	0,76±0,37*,**	0,19±0,05
14-е сутки	0,86±0,43*,**	0,48±0,08*,**	0,23±0,05
21-е сутки	0,42±0,11	0,31±0,09	0,18±0,06

*Достоверность различий между показателями исследуемых групп с контролем ($p<0,01$) по методу Манна–Уитни; **достоверность различий показателей исследуемых групп ($p<0,01$) по методу Вилкоксона.

Таблица 4

Динамика средних значений сывороточной концентрации BDNF в зависимости от оценки по шкале Апгар на 1-й минуте

Группы детей	BDNF, мкг/л	
	1-я проба	2-я проба
1-я (оценка по шкале Апгар 0–4 балла)	5,6±1,7*	4,2±0,9*
2-я (оценка по шкале Апгар 5–7 баллов)	6,27±1,09*,**	3,14±0,6*,**
Контрольная	2,5±1,7	3,3±1,05

*Достоверно отличие от нормы ($p<0,01$) по методу Манна–Уитни; **достоверно отличие между 1-й и 2-й пробами ($p<0,01$) по методу Вилкоксона.

I степени – у одного ребенка (1,4%). На этапе родильного дома у детей этой группы синдром угнетения ЦНС имел место в 73 случаях (98,6%). 6 новорожденных (8,1%) находилось в коматозном состоянии (кома II степени – 3 ребенка и 3 – кома III степени); судорожный синдром диагностирован в 27 (36,5%) случаях; признаки внутричерепной гипертензии выявлялись у 44 детей (59,6%), 2 из них (2,7%) в последующем, в связи с острой окклюзией ликворовыводящих путей, проводились шунтирующие операции. Изменения на НСГ в этой группе характеризовались у 15 (20,3%) новорожденных сочетанными поражениями (внутрижелудочковые кровоизлияния – ВЖК+перивентрикулярная лейкомаляция – ПВЛ); ВЖК IV степени – у 2 детей (2,7%), III степени – у 8 (10,8%), II степени – у 4 (5,4%); ПВЛ диагностирована у 13 новорожденных (17,6%) и без изменений на НСГ наблюдались 32 (43,2%) ребенка. Летальность в 1-й группе составила 16,2% (12 новорожденных).

2-я группа представлена 16 новорожденными с ГВ от 27 до 42 недель, средней массой тела при рождении 2467±360 г ($M\pm SD$) (в интервале от 1230 до 3970 г). Оценка по шкале Апгар на 1-й минуте у детей этой группы составила в среднем 6,45±0,2 балла, на 5-й – 7,16±0,32 балла (интервал от 6 до 8 баллов). Мальчиков – 10, девочек – 6. Состояние при рождении расценено как тяжелое у 10 детей (62,5%) и средней тяжести – у 6 (37,5%). Признаки гипоксически-ишемического

поражения I–II степени представлены синдромом возбуждения ЦНС у 7 (23,3%) новорожденных, синдромом угнетения – у 10 (62,5%), признаками внутричерепной гипертензии – у 5 (31,3%), судорожным синдромом – в 3 случаях (18,8%). Изменения при НСГ в данной группе были следующими: ПВЛ – у 2 (12,5%) детей, ВЖК II степени – у одного ребенка (6,3%). Летальность во 2-й группе составила 12,5% (2 ребенка).

Результаты и их обсуждение

При оценке сывороточной концентрации S-100 в зависимости от оценки по шкале Апгар на 1-й минуте максимальные значения антигена были отмечены независимо в 1-е сутки жизни у всех новорожденных. Однако у детей, родившихся в состоянии тяжелой асфиксии (1–4 балла по шкале Апгар), в первые сутки показатели сывороточной концентрации белка S-100 были существенно выше нормативных значений (в 9–10 раз) и составляли в среднем 2,49±0,13 мкг/л. У новорожденных с оценкой по шкале Апгар на 1-й минуте 5–7 баллов отмечалось повышение концентрации белка S-100 в 2–3 раза и в среднем регистрировались значения 1,1±0,08 мкг/л. В дни дальнейшего наблюдения характер изменений концентрации был идентичен, но значения сывороточного уровня S-100 у новорожденных с тяжелой асфиксией при рождении были выше почти в 2 раза, чем у новорожденных с оценкой по шкале Апгар 5–7 баллов, что свиде-

тельствует о более высокой проницаемости ГЭБ для S-100 при тяжелой асфиксии (табл. 3).

Значительное нарастание уровня S-100 в 1–3-и сутки жизни свидетельствует о начавшихся деструктивных процессах в мозговой ткани и является ранним маркером ее повреждения.

Корреляционный анализ в выделенных группах новорожденных детей выявил выраженную обратную зависимость уровня S-100 в сыворотке крови новорожденных от тяжести асфиксии при рождении, характеризующейся оценкой по шкале Апгар на 1-й минуте: чем ниже была оценка по шкале Апгар, тем выше был сывороточный уровень белка S-100. Сильные корреляционные связи ($R > 0,6$; $p\text{-level} < 0,05$) определялись в группе с оценкой по шкале Апгар 1–4 балла на 1-й минуте в течение 14 суток жизни, а в группе с оценкой 5–7 баллов на 1-й минуте – в 1-е и 3-и сутки жизни. Это объясняется тем, что в группе новорожденных детей с тяжелой асфиксией при рождении концентрация белка S-100 в сыворотке крови была достоверно выше в течение всего периода наблюдения ($p < 0,01$).

Было проведено сравнение средних значений сывороточной концентрации BDNF в зависимости от тяжести асфиксии при рождении. Значения средних показателей сывороточной концентрации BDNF у новорожденных с острой тяжелой асфиксией в 1-е сутки жизни были несколько ниже, чем в группе с умеренной асфиксией и равны соответственно $5,6 \pm 1,7$ и $6,27 \pm 1,09$ мкг/л, но по сравнению с нормой увеличивались более, чем в 2 раза ($p < 0,01$). Средние показатели 2-й пробы (на 3–5-е сутки жизни) снижались и были равны $4,2 \pm 0,9$ и $3,14 \pm 0,6$ мкг/л соответственно. Достоверные различия в данных 1-й и 2-й проб отмечены у новорожденных в группе с оценкой по шкале Апгар 5–7 баллов ($p < 0,01$) (табл. 4).

Дети, испытавшие хроническую внутриутробную гипоксию и острую асфиксию в родах, с морфофункциональной незрелостью и с меньшим ГВ имеют самое низкое содержание нейротрофического фактора головного мозга, обладающего протективным действием на нервные клетки, не способны адекватно перенести тяжелый гипоксический стресс. Напротив, у новорожденных с повышенным в 2–3 раза сыворо-

точным содержанием BDNF в 1-е сутки даже при перенесенной тяжелой гипоксии-ишемии мозга в дальнейшем не формируются структурные изменения ЦНС (табл. 5).

На основе полученных значений сывороточной концентрации васкулоэндотелиального фактора прослеживалась обратная зависимость степени тяжести состояния от величины исследуемого цитокина. При сравнении концентрации VEGF у новорожденных с острой тяжелой и умеренной асфиксией по методу Манна–Уитни были выявлены различия во всех пробах, концентрация антигена у новорожденных с умеренной асфиксией была достоверно выше, чем при тяжелой асфиксии ($p < 0,01$). Выявлены различия в концентрации внутри групп (по методу Вилкоксона). В группе новорожденных с оценкой по шкале Апгар 0–4 балла достоверно ($p < 0,05$) отличались показатели 1-й и 2-й и 1-й и 3-й проб. У новорожденных с умеренной асфиксией при рождении различия в концентрации антигена выявлены между 1-й и 3-й пробами.

Выявленные изменения в концентрации VEGF у новорожденных позволяют сделать вывод о том, что при умеренной асфиксии, когда повреждения мозга еще не успели сформироваться или они носят незначительный характер, наблюдаются чрезвычайно важный феномен в виде активации механизмов клеточного восстановления и индукция синтеза такого необходимого фактора защиты, как VEGF.

Также проводили сравнение уровня ALCAM в зависимости от состояния новорожденных при рождении в соответствии с оценкой по шкале Апгар на 1-й минуте жизни. Максимальные показатели концентрации антигена отмечались в первые 48 ч жизни у всех обследованных новорожденных. Однако у детей с тяжелой острой асфиксией в родах концентрация в 1-й пробе была выше в 1,72 раза ($4,24 \pm 3,48$ мкг/л) по сравнению с новорожденными с оценкой по шкале Апгар 5–7 баллов ($2,46 \pm 1,34$ мкг/л); к 5–7-му дню жизни концентрация ALCAM снижалась, составляя в группе с оценкой по шкале Апгар 1–4 балла $2,67 \pm 2,02$ мкг/л, а у новорожденных с оценкой 5–7 баллов – $1,73 \pm 1,09$ мкг/л.

К 2-й неделе жизни уровень ALCAM в сыворотке крови составлял соответственно $1,32 \pm 0,64$

Таблица 5

Концентрация VEGF в сыворотке крови у новорожденных обследуемых групп

Группы детей	VEGF, мкг/л		
	1-я проба	2-я проба	3-я проба
1-я (оценка по шкале Апгар 0–4 балла)	122,63±115,44*	169,148±135,67*	177,362±150,67*
2-я (оценка по шкале Апгар 5–7 баллов)	195,31±163,26*	337,424±154,11	361,125±187,17*
Контрольная	193,467±59,035	218,128±62,34	200,125±49,73

*Достоверно различаются соответствующие пробы ($p < 0,001$) по методу Вилкоксона; выделено жирным шрифтом – достоверное различие между показателями групп (тяжелая и умеренная асфиксия) по методу Манна–Уитни ($p < 0,01$); достоверных различий по сравнению с контрольной группой выявлено не было по методу Манна–Уитни.

и $0,46 \pm 0,52$ мкг/л. Все данные достоверно отличались от контрольных значений при сравнении по методу Манна–Уитни. Значения концентрации ALCAM в группе с оценкой по шкале Апгар 1–4 балла также отличались от показателей концентрации в группе с оценкой 5–7 баллов. При сравнении по методу Вилкоксона в 1-й группе были выявлены различия между значениями концентрации ALCAM между 1-й и 2-й пробами; 1-й и 3-й; 1-й и 3-й пробами. Во 2-й группе различия между значениями были выявлены между показателями 1-й и 3-й проб. Снижение концентрации ALCAM по сравнению с исходными уровнями ко 2-й неделе жизни в 1-й группе было в 3,21 раза, во 2-й – в 5,35 раз (табл. 6). Обратная корреляционная зависимость с оценкой по шкале Апгар на 1-й минуте жизни выявлена во всех группах.

Развитие гипоксии мозга запускает патобиохимические реакции, которые протекают во всех основных клеточных пулах нервной ткани и вызывают нейрональные нарушения, астроцитоз, микроглиальную активацию, а также комбинированные с ними изменения нейтрофилов, макрофагов, эндотелиальных клеток. Уже через 6–8 ч после развития ишемии появляются реактивные изменения нейтрофилов в микроциркуляторном русле, которые вызваны активацией микроглии и резким повышением синтеза противовоспалительных факторов, МКА. Характерным признаком в этом временном промежутке являются адгезия нейтрофилов к эндотелию мелких сосудов, проникновение их через ГЭБ и инфильтрация ими ишемизированной ткани мозга. Изменения уровня МКА (ALCAM) в сыворотке крови варьируют в зависимости от особенностей течения постгипоксических процессов в тканях. При изучении динамики уровня ALCAM в сыворотке крови у новорожденных с гипоксическим поражением ЦНС мы выявили, что пик уровня исследуемого антигена отмечался в первые 48 ч жизни, когда на клеточном уровне отмечаются активное формирование цитотоксического отека, максимальная активность микроглии и миграция полиморфноядерных лейкоцитов. Эти изменения происходят на фоне нарушения проницаемости ГЭБ и усугубления изменений реологических свойств крови. В этой стадии активная адгезия лейкоцитов играет важную роль в реперфузионном повреждении мозга. Адгезированные к эндотелию лейкоциты медленно проникают через эндотелиальную стенку. Затем, к 5–7-м суткам жизни, лейкоцитарная миграция уменьшается у всех новорожденных с гипоксическим поражением головного мозга.

При исследовании сывороточной концентрации маркера апоптоза DR5 у обследованных детей наблюдалась прямая зависимость показателей проапоптотического фактора от тяжести состояния, т.е. чем тяжелее перенесенная асфиксия в родах, тем выше сывороточный уровень DR5. В группе с тяжелой острой асфиксией концентрация составила $51,4 \pm 8,3$ мкг/л, а в группе с умеренной асфиксией — $27,8 \pm 11,1$

мкг/л. Выявленные значения достоверно отличались от контрольных значений ($p < 0,001$).

Исследование уровня маркера апоптоза DR5 в сыворотке крови у новорожденных детей с острой асфиксией подтвердило значимость процессов «запрограммированной клеточной смерти» в патогенезе постгипоксических изменений в тканях мозга. Было выявлено повышение исследуемого антигена у всех новорожденных. Особенно значимыми были изменения концентрации маркера DR5 у детей со структурными изменениями головного мозга, что подтверждает влияние процессов апоптоза на «доформирование» очагов поражения головного мозга.

Заключение

Таким образом, при выявлении зависимости концентрации исследуемых факторов от состояния при рождении (оценка по шкале Апгар на 1-й минуте жизни) было установлено, что у новорожденных с острой тяжелой асфиксией в 1-е сутки жизни уровни S-100, DR5 и ALCAM – деструктивных факторов – в сыворотке крови были достоверно выше, чем у детей с оценкой по шкале Апгар 5–7 баллов, а концентрация трофических факторов BDNF и VEGF была выше у детей с умеренной асфиксией в родах. Полученные данные свидетельствуют о том, что тяжесть асфиксии в родах – индуктор нарушения баланса в процессе реализации защитных и репаративных механизмов при гипоксии мозга. Это подтверждают данные как других авторов, изучавших изменение индукторов и ингибиторов апоптоза в эксперименте, так и собственных исследований, приводимых ранее.

Поскольку причины хронизации нейродегенеративных механизмов, определяющих течение и исходы гипоксии мозга у детей, не известны, важно было провести иммунохимическое подтверждение инициации деструктивного процесса и состояния ГЭБ при острых гипоксических поражениях головного мозга в раннем неонатальном периоде и на этой основе проанализировать связь элиминации исследуемых антигенов с нарушениями функции ЦНС. Нервная, иммунная и сосудистая система являются компонентами единой системы и выполняют совместную функцию сохранения динамического гомеостаза в организме. Присутствующие с первых минут гипоксии мозга нарушения ГЭБ становятся наиболее выраженными через несколько часов (6–72 ч) вследствие деятельности сложного каскада микроциркуляторно-клеточных реакций. В условиях изменения целостности ГЭБ нарушения в системе исследуемых факторов присутствуют с первых часов, но наиболее выраженными они становятся уже к 48 ч жизни. Данные, полученные в работе, свидетельствуют о высокой вероятности повреждения ЦНС у новорожденных с острой асфиксией. Это необходимо учитывать как при ведении беременных женщин групп высокого риска, так при оценке психомоторного развития детей, перенесших асфиксию.

1. Browder T, Folkman J, Pirie-Shepherd S. The haemostatic system as a regulator of angiogenesis. *J. Biol. Chem.* 2000; 275: 1521–1524.
2. Brummendorf T, Rathjen FG. Cell-adhesion molecules. 1. Immunoglobulin superfamily. *J. Introduction protein profile.* 1995; 1 (9): 951–1058.
3. Thorngren-Jerneck K, Alling C, Herbst A, Amer-Wahlin I, Marsal K. S100 protein in serum as a prognostic marker for cerebral injury in term newborn infants with hypoxic ischemic encephalopathy. *Pediatr. Res.* 2004; 55 (3): 406–412.
4. Volpe JJ. *Neurology of the Newborn.* Philadelphia, PA: Saunders, 1995.
5. Петрухин А.С. Неврология детского возраста. М.: Медицина, 2004: 784 с.
6. Володин Н.Н., Медведев М.И., Рогаткин С.О. Перинатальная энцефалопатия и ее последствия – дискуссионные вопросы семиотики и терапии. *Российский педиатрический журнал.* 2001; 1: 4–8.
7. Самсыгина Г.А. Гипоксические поражения центральной нервной системы у новорожденных детей: клиника, диагностика, лечение. *Педиатрия.* 1996; 5: 74–77.
8. Сахарова Е.С., Кешишян Е.С., Алямовская Г.А. Особенности психомоторного развития недоношенных детей, рожденных с массой тела менее 1000 г. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2002; 4: 20–23.
9. Голосная Г.С. Роль ингибиторов апоптоза в диагностике и прогнозировании исходов перинатальных гипоксических поражений головного мозга у новорожденных. *Педиатрия.* 2005; 3: 30–35.
10. Голосная Г.С. Показатели васкулопатии при гипоксических поражениях головного мозга у новорожденных. *Вестник РГМУ.* 2005; 5 (44): 42–46.
11. Голосная Г.С., Петрухин А.С., Терентьев А.А. и др. Взаимодействие нейротрофических и проапоптотических факторов в патогенезе гипоксического поражения головного мозга у новорожденных. *Педиатрия.* 2010; 89 (1): 20–25.
12. Гомазков О.А. Нейрогенез как адаптивная функция мозга. М.: Икар, 2013: 144 с.
13. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001: 328 с.
14. Дегтярева М.Г. Динамический контроль функционального состояния ЦНС у детей с перинатальными постгипоксическими поражениями головного мозга на первом году жизни: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2002.
15. Маркевич К.А. Прогностическое значение белка S-100 при гипоксических поражениях мозга в неонатальном периоде: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2005.
16. Park ES, Park CL, Choi KS, Choi IH, Shin JS. Overexpression of S100B protein in children with cerebral palsy or delayed development. *Brain Dev.* 2004; 26 (3): 190–196.
17. Gazzolo D, Vinesi P, Bartocci M, Geloso MC, Bonacci W, Serra G, Haglid KG, Michetti F. Elevated S100 blood level as an early indicator of intraventricular hemorrhage in preterm infants. Correlation with cerebral Doppler velocimetry. *J. Neurol. Sci.* 1999; 170 (1): 32–35.
18. Distefano G, Curreri R, Betta P, Isaja MT, Romeo MG, Amato M. Serial protein S-100 serum levels in preterm babies with perinatal asphyxia and periventricular white matter lesions. *Am. J. Perinatol.* 2002; 19 (6): 317–322.
19. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2001; 33: 637–668.
20. Endres M, Fan G, Hirt L, Jaenisch R. Stroke damage in mice after knocking the neutrophin-4 gene into the brain-derived neurotrophic factor locus. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2003; 23 (2): 150–153.
21. Gustafsson E. Brain-derived neurotrophic factor in cerebral ischemia: a quantitative study on surviving and newly formed neurons. Doctoral dissertation, Lund University, Section of Restorative Neurology, 2002.
22. Hava MG, Kashtuzki I, Hallak M, Sorokin Y, Huleihel M. Neurotrophins and development. *FENS.* 2004; 2: 18–21.
23. Husson I, Rangon CM, Lelievre V, Bemelmans AP, Sachs P, Mallet J, Kosofsky BE, Gressens P. BDNF-induced white matter neuroprotection and stage-dependent neuronal survival following a neonatal excitotoxic challenge. *Cereb. Cortex.* 2005; 15 (3): 250–261.
24. Josko J. Cerebral angiogenesis and expression of VEGF after subarachnoid hemorrhage (SAH) in rats. *Brain Res.* 2003; 98 (2): 58–69.
25. La Manna JC, Kuo NT, Lust WD. Hypoxia-induced brain angiogenesis – Signals and consequences. *J. Oxygen transport to tissue XX.* 1998; 454: 287–293.
26. Lennmyr F, Ahmad Ata K, Funa K, Olsson Y, Terent A. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors (Flt-1 and Flk-1) following permanent and transient occlusion of the middle cerebral artery in the rat. *J. of Neuropathol. and Exp. Neurology.* 1998; 57 (9): 874–882.
27. Meissirel C, Chounlamountri N, Salin P, Belin MF, Thomasset N. Specific effects of VEGF on granular cell proliferation, migration and axogenesis during cerebellar development. *FENS Forum abstrats.* 2004; 2: 15.
28. Mongkolsapaya J. Structure of the TRAIL-DR5 complex reveals mechanisms conferring specificity in apoptotic initiation. *Nat. Struct. Biol.* 1999; 6 (11): 1048–1053.
29. Mu D, Jiang X, Sheldon RA, Fox CK, Hamrick SE, Vexler ZS, Ferriero DM. Regulation of hypoxia-inducible factor 1 alpha and induction of vascular endothelial growth factor in a rat neonatal stroke model. *Neurobiol. Dis.* 2003; 14 (3): 524–534.
30. Morrison J, Hof P. Life and death of neurons in the aging brain. *J. Recherche.* 1999; 322: 52–56.
31. Албагачиева Д.И. Проапоптотические факторы в структуре патогенеза гипоксически-ишемического поражения ЦНС у новорожденных: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2010.
31. White BC, Sullivan JM, DeGracia DJ, O'Neil BJ, Neumar RW, Grossman L, et al. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *J. Neurol. Sci.* 2000; 179 (Suppl. 1–2): 1–33.
32. McEver RP. Adhesive interaction of leukocytes, platelets, and the vessel wall during hemostasis and inflammation. *Thrombosis and Haemostasis.* 2001; 86 (3): 746–756.
33. Kuijper TW, Hakkert BC, Hoogerwert M, et al. Role of endothelial leukocyte adhesion molecule-1 and platelet-activating factor in neutrophil adherence to IL-1-mediated prestimulated endothelial cells. Endothelial leukocyte adhesion molecule-1-mediated CD18 activation. *J. Immunol.* 1991; 147 (4): 1369–1376.
34. Kamiguchi H, Hlavín ML, Yamasaki M, Lemmon V. Adhesion molecules and inherited diseases of the human nervous system. *J. Ann. Rev. of Neuroscience.* 1998; 21 (388): 97–125.
35. Chamnanvanakij S, Margraf LR, Burns D, Perlman JM. Apoptosis and white matter injury in preterm infants. *Pediatr. Dev. Pathol.* 2002; 5 (2): 184–189.
36. Моргунов А.В., Кувачева Н.В., Таранушенко Т.Е., Хилажева Е.Д. и др. Современные представления о патогенезе перинатального ишемического повреждения клеток нейроваскулярной единицы головного мозга: молекулы-мишени для нейропротекции. *Вестник РАМН.* 2013; 12: 26–35.