

Г.С. Голосная¹, А.В. Яковлева², А.Л. Заплатников³, О.Е. Мачевская⁴, С.В. Трепилец⁵,
Е.Н. Дьяконова⁶, Е.В. Шниткова⁶, И.В. Зольникова⁷

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ УРОВНЯ ТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМ ГИПОКСИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦНС

¹Отделение реанимации новорожденных ГКБ № 13 Акушерский филиал № 1, Москва;

²Отделение новорожденных с ОРПТ ФГУ ЦКБП УД Президента РФ, Акушерско-гинекологический корпус, Москва; ³кафедра педиатрии Российской медицинской академии последипломного образования, Москва;

⁴научно-диагностическое отделение Научно-исследовательского института им. Н.Н. Бурденко, Москва;

⁵Неврологическая клиника на Полянке, Москва; ⁶кафедра неврологии и нейрохирургии ИМО, г. Иваново;

⁷НИИ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, РФ

Целью нашей работы было изучение изменения сывороточной концентрации нейротрофических факторов – мозгового нейротрофического фактора (BDNF), цилиарного нейротрофического фактора (CNTF), а также васкулоэндотелиального ростового фактора (VEGF) и их участия в патогенезе тяжелых гипоксически-ишемических поражений ЦНС у новорожденных различного гестационного возраста. Обследованы 75 новорожденных. Дети были разделены 4 группы в соответствии с изменениями на нейросонографии (НСГ): 1-я группа – новорожденные, у которых на НСГ не отмечалось структурных изменений (30); 2-я группа – дети с перивентрикулярной лейкомаляцией (ПВЛ) (15); 3-я группа – дети с внутрижелудочковыми кровоизлияниями (ВЖК) (15); 4-я группа – дети с сочетанием ВЖК и ПВЛ (15). Определение сывороточной концентрации BDNF проводили в первые 48 ч и на 3–5-е сутки жизни; уровень

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.: (495) 335-57-75, E-mail: ggolosnaya@yandex.ru
Статья поступила 15.09.16,
принята к печати 20.12.16.

Contact Information:

Golosnaya Galina Stanislavovna – MD., associate
prof., neurologist of neonatal intensive care unit,
City Clinical Hospital № 13, Obstetric branch № 1
Address: Russia, 115280, Moscow,
Sharikopodshipnikovskaya str., 3
Tel.: (495) 335-57-75, E-mail: ggolosnaya@yandex.ru
Received on Sep. 15, 2016,
submitted for publication on Dec. 20, 2016.

VEGF измеряли в первые 48 ч, на 7-е и 28-е сутки жизни. Пробы крови для определения CNTF проводили 4 раза: 1-я – на 1–2-е сутки жизни; 2-я – на 5–7-е сутки жизни; 3-я – на 12–14-е сутки жизни; 4-я – на 24–28-е сутки жизни. Уровень нейротрофина BDNF был значительно снижен у новорожденных 2-й и 4-й групп. CNTF определяли только у новорожденных с гипоксически-геморрагическим поражением ЦНС. Показатели VEGF снижались у детей во 2-й и 4-й групп. Прогностическую ценность имеет раннее определение концентрации в сыворотке крови CNTF при геморрагических изменениях и BDNF при гипоксически-ишемических изменениях ЦНС. Изучение нейротрофинов, факторов роста открывает дополнительные возможности для исследования постгипоксических изменений и восстановительных процессов ЦНС.

Ключевые слова: нейротрофический фактор головного мозга, васкулоэндотелиальный фактор роста, цилиарный нейротрофический фактор, новорожденные, гипоксия, внутрижелудочковое кровоизлияние, перивентрикулярная лейкомаляция.

Цит.: Г.С. Голосная, А.В. Яковлева, А.Л. Заплатников, О.Е. Мачевская, С.В. Трепилец, Е.Н. Дьяконова, Е.В. Шниткова, И.В. Зольникова. Диагностическое значение уровня трофических факторов у новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС. *Педиатрия*. 2017; 96 (1): 15–22.

G.S. Golosnaya¹, A.V. Yakovleva², A.L. Zaplatnikov³, O.E. Machevskaya⁴,
S.V. Trepilets⁵, E.N. Dyakonova⁶, E.V. Shnitkova⁶, I.V. Zolnikova⁷

DIAGNOSTIC VALUE OF TROPHIC FACTORS LEVEL IN NEWBORNS WITH PERINATAL HYPOXIC CNS LESIONS

¹Neonatal intensive care unit, City Clinical Hospital № 13, Obstetric branch № 1, Moscow; ²Neonatal intensive care unit, Central Clinical Hospital of the Presidential Administration of the Russian Federation, Obstetric Gynecological branch, Moscow; ³Pediatrics Department, Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow;

⁴Scientific-Diagnostic Department, Scientific Research Institute named after N.N. Burdenko, Moscow;

⁵Neurological Clinic on Polyanka, Moscow; ⁶Neurology and Neurosurgery Department, ИМО, Ivanovo;

⁷Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia

Objective of the research – to study changes in serum concentration of neurotrophic factors – brain-derived neurotrophic factor (BDNF), ciliary neurotrophic factor (CNTF), and vascular endothelial growth factor (VEGF) and their role in pathogenesis of severe hypoxic ischemic CNS lesions in newborns of different gestational age. The study included 75 newborns. Children were divided into 4 groups according to neurosonography (NSG) changes: 1st group – newborns that had no structural changes in NSG (30); 2nd group – children with periventricular leukomalacia (PVL) (15); 3rd group – children with intraventricular hemorrhage (IVH) (15); 4th group – children with a combination of IVH and PVL (15). BDNF serum concentration was measured in the first 48 hours and 3–5 day of life; VEGF level was measured in the first 48 hours, at 7 and 28 days of life. Blood samples for CNTF measurement were performed 4 times: 1st at 1–2 day of life, 2nd at 5–7 day of life, 3rd at 12–14 day of life, 4th at 24–28 day of life. CNTF was studied only in newborns with hypoxic hemorrhagic CNS lesion. VEGF indicators decreased in children of 2nd and 4th groups. Early estimation of CNTF concentration in blood serum has prognostic value for hemorrhagic changes and BDNF at hypoxic ischemic CNS changes. The study of neurotrophins, growth factors opens up additional possibilities for study of posthypoxic changes and CNS recovery processes.

Keywords: brain-derived neurotrophic factor, vascular endothelial growth factor, ciliary neurotrophic factor, newborns, hypoxia, intraventricular hemorrhage, periventricular leukomalacia.

Quote: G.S. Golosnaya, A.V. Yakovleva, A.L. Zaplatnikov, O.E. Machevskaya, S.V. Trepilets, E.N. Dyakonova, E.V. Shnitkova, I.V. Zolnikova. Diagnostic value of trophic factors level in newborns with perinatal hypoxic CNS lesions. *Pediatrics*. 2017; 96 (1): 15–22.

Важным аспектом для врачей неврологов, занимающихся проблемой перинатального гипоксического поражения ЦНС у новорожденных, являются изучение патогенеза, рассмотрение механизмов, по которым развивается сложный каскад патофизиологических процессов, обуславливающих как гибель нервных клеток, так и возможные пути их сохранения [1–3].

Способность развивающегося мозга новорожденного восстанавливаться после перенесенной гипоксии–ишемии зависит от процессов синтеза и активности нейротрофических факторов и стимулирующих факторов роста.

Клиническими исследованиями доказано, что частота тяжелых ишемических и геморрагических нарушений коррелирует с пренаталь-

ными факторами. Процессы роста и восстановления структур ЦНС еще не изучены полностью, что ограничивает возможности оценки дальнейшего развития ребенка. Особенности детей грудного возраста таковы, что иногда даже обширное повреждение мозга в первом полугодии жизни не формирует неврологический дефицит и очаговые нарушения, и этот период обозначают как «немой» [4–6].

Использование нейроспецифических белков (НСБ) в качестве маркеров различных патологических состояний наряду с методами нейровизуализации и электрофизиологического обследования у новорожденных является одним из перспективных направлений. Развитие этого направления имеет не только научно-практическую ценность, но и социальное значение [7–10].

Важным преимуществом иммунохимического определения уровня НСБ в биологических жидкостях (плазма крови, цереброспинальная жидкость) по сравнению с другими методами диагностики являются высокая чувствительность, точность и малые количества (0,2–0,5 мкл) исследуемого материала. Диагностически значимые изменения уровня НСБ в ликворе и плазме выявляются значительно раньше, чем те повреждения, которые можно выявить любыми другими доступными методами инструментального обследования [11–15].

Изучение динамики уровня НСБ в биологических жидкостях позволяет не только проводить раннюю диагностику церебральных повреждений, но и контролировать эффективность проводимой терапии. В течение последних 15 лет тема нейробиохимических аспектов раннего поражения головного мозга активно изучается. Однако имеются моменты, которые еще недостаточно исследованы [16, 17]. К ним, в частности, относится изменение различных нейропротективных цитокинов у новорожденных детей различного гестационного возраста (ГВ). Патологические изменения в балансе нейропротективных факторов позволяют более точно определить прогноз морфологических изменений мозга, их изучение является приоритетным направлением в перинатальной неврологии [18–20].

Целью нашей работы было изучение изменений сывороточной концентрации нейротрофических факторов – мозгового нейротрофического фактора (BDNF), цилиарного нейротрофического фактора (CNTF), а также васкулоэндотелиального ростового фактора (VEGF) и их участия в патогенезе тяжелых гипоксически-ишемических поражений ЦНС у новорожденных различного ГВ.

Материалы и методы исследования

Для решения поставленной задачи было проведено исследование, одобренное этическим комитетом РНИМУ им Н.И. Пирогова.

Под нашим наблюдением находились 75 детей с ГВ от 25 до 42 недель, массой тела при

рождении от 710 до 4230 г. Мальчиков – 44, девочек – 31. Дети были разделены на 4 группы в соответствии с изменениями на нейросонографии (НСГ): 1-я группа – новорожденные, у которых на НСГ отмечалось повышение перивентрикулярной эхогенности, от умеренной до выраженной (30 детей); 2-я группа – новорожденные с перивентрикулярной лейкомаляцией (ПВЛ) (15 детей); 3-я группа – новорожденные с внутрижелудочковыми кровоизлияниями (ВЖК) (15 детей); 4-я группа – новорожденные с сочетанием ВЖК и ПВЛ (15 детей).

Контрольная группа (20 новорожденных) была представлена здоровыми доношенными детьми (n=10), а также недоношенными детьми без поражения ЦНС (n=10). Взятие проб крови у детей контрольной группы осуществляли при проведении необходимых анализов в стационаре по показаниям (биохимические анализы, общий анализ крови).

Все дети 1–4-й групп родились от матерей с отягощенным течением беременности и родов. Средняя оценка по шкале Апгар на первой минуте жизни составила 1–4 балла у 35 детей, 5–7 баллов – у 29, 7–8 баллов – у 11 детей. Все новорожденные имели признаки тяжелого перинатального гипоксического поражения ЦНС, которое было диагностировано на основании данных анамнеза, оценки динамики неврологического статуса и НСГ. Основными клиническими проявлениями были: угнетение ЦНС (68 новорожденных), судороги (25 детей), кома (4 ребенка). Тяжесть состояния детей была обусловлена комплексом различных патологических процессов: внутриутробная пневмония, синдром дыхательных расстройств, гемолитическая болезнь, нарушение водно-электролитного баланса. Наличие и тяжесть дыхательной недостаточности обусловили необходимость проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ) с первых часов жизни 77,3% (58 новорожденных), причем у половины из них в первые 5 мин жизни. Перевод в отделение реанимации интенсивной терапии осуществляли на 1–3-е сутки жизни. Длительность ИВЛ составила в среднем 7 сут, максимально – 32 сут.

С письменного информированного согласия родителей всем детям проводили клинико-лабораторное обследование.

Пробы крови для определения сывороточной концентрации BDNF были получены при поступлении в отделение реанимации в первые 48 ч и на 3–5-е сутки жизни; для определения VEGF – в первые 48 ч, 7-е и 28-е сутки жизни. Пробы крови для определения CNTF проводили 4 раза: 1-я – на 1–2-е сутки жизни, 2-я – на 5–7-е сутки жизни, 3-я – на 12–14-е сутки жизни, 4-я – на 24–28-е сутки жизни.

Полученную сыворотку в объеме 0,5 мл замораживали и хранили при температуре –20 °С не более 2 месяцев.

Определение содержания белков проводили методом ИФА по стандартной методике. Для BDNF и CNTF использовали реактивы фирмы R&D (Англия),

**Изменение средних значений сывороточной концентрации BDNF
у новорожденных в зависимости от результатов НСГ**

Статистические показатели	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
1-я проба (48 ч жизни)				
M±SD, нг/мл	5,59±3,16*, **	0,53±0,42*, **	10,9±11,77*, **	0,47±0,64*, **
min-max, нг/мл	0,03-11,7	0,02-1,57	8,2-44,96	0,03-2,4
2-я проба (3-5-е сутки жизни)				
M±SD, нг/мл	3,8±1,73	2,87±1,52	6,14±5,5*	2,28±1,96
min-max, нг/мл	3,16-9,4	0,1-5,6	4,1-18,2	0,59-3,5

Контрольная группа: 1-я проба – 2,5±1,7 нг/мл; 2-я проба – 3,1±1,05 нг/мл; *достоверность различий средних показателей сывороточной концентрации BDNF от контрольной группы по методу Манна-Уитни (p<0,01); **достоверные различия между показателями 1-й и 2-й проб внутри группы (по методу Вилкоксона) (p<0,01).

сывороточный уровень VEGF исследовали с помощью тест-систем фирмы Biosource (Бельгия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistika 5. Для оценки достоверности различий между группами использовали тест множественного сравнения средних ANOVA, с последующим сравнением групп по методу Манна-Уитни. В каждой группе данные сравнивали между собой по методу Вилкоксона. Корреляционную зависимость вычисляли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (R).

Результаты и их обсуждение

При изучении динамики сывороточной концентрации BDNF, VEGF и CNTF у новорожденных с гипоксическим поражением ЦНС нами были получены следующие результаты.

Нормальные значения были для BDNF 1–3,9 нг/мл; VEGF – 122–400 нг/мл. В контрольной группе концентрация CNTF в сыворотке крови не определялась. Нормативные значения для этих факторов были определены нами в 2003–2005 гг. [5, 8]. Ранее в литературе отсутствовали исследования нормативных значений указанных факторов у новорожденных.

Анализируя уровень BDNF, мы выявили тенденцию к повышению его показателей в первой пробе у детей без структурных изменений на НСГ (в 1,5–2 раза), что в среднем составило 5,59±3,16 нг/мл. При развитии ВЖК (3-я группа) концентрация нейротрофина резко возросла (до 4 раз) и составляла 10,9±11,77 нг/мл. У новорожденных с тяжелым ишемическим поражением (ПВЛ) и сочетанным поражением (ПВЛ+ВЖК) средние значения BDNF существенно снижались и были практически равны между собой: 0,53±0,42 и 0,47±0,64 нг/мл соответственно.

При изучении динамики значений второй пробы (на 3–5-е сутки жизни) у новорожденных без структурных изменений головного мозга концентрация нейротрофина снижалась без достоверных различий (p>0,01).

В группе с гипоксически-геморрагическим поражением (ВЖК) концентрация BDNF достоверно снижалась (в среднем на 50%) до 6,14±5,5 нг/мл, но оставалась увеличенной по сравнению

с верхней границей нормы более чем в 2 раза (p<0,01). У детей с ишемическими структурными нарушениями (ПВЛ) и сочетанной формой поражения (ПВЛ+ВЖК) сывороточный уровень BDNF увеличивался по сравнению с исходными данными в 4–5 раз: 2,28±1,96 нг/мл и в среднем становился равным норме (p<0,01). Данные представлены в табл. 1.

Сывороточная концентрация VEGF роста во всех исследуемых группах характеризовалась значительной разницей между минимальными и максимальными значениями, особенно в группах новорожденных со структурными изменениями головного мозга на НСГ. Сравнивая средние значения показателей VEGF за время наблюдения, можно отметить, что в 1-й группе не было выявлено достоверных различий с нормативными данными. Однако в этой группе новорожденных в отличие от контрольной группы отмечалась тенденция к повышению среднего сывороточного уровня VEGF к 28-м суткам жизни.

У новорожденных с ВЖК наблюдалось снижение концентрации VEGF к 4-й неделе жизни (достоверно различие с контролем и уровнем на 1-й неделе жизни, p<0,01).

У детей с тяжелыми ишемическими поражениями головного мозга (2-я и 4-я группы) начальные уровни VEGF в сыворотке соответствовали нормативным, затем наблюдалось достоверное снижение средних значений сывороточной концентрации к 28-м суткам жизни (p<0,01). При индивидуальном анализе у всех детей также отмечалось снижение VEGF к 4-й неделе жизни. В этих группах у каждого 3-го новорожденного в течение 1-й недели наблюдения фиксировались значения VEGF менее 50 нг/мл.

В 4-й группе при комбинации ВЖК и ПВЛ средние сывороточные значения VEGF в первые 48 ч жизни достоверно не отличались от нормальных, что связано в наших наблюдениях с тем, что у 5 новорожденных концентрация VEGF превышала 220 нг/мл. К 28-м суткам жизни концентрация VEGF значительно снижалась и составляла 53,22 нг/мл, что было в 2 раза ниже минимальных нормативных показателей. У новорожденных с неблагоприятным исходом (умерших) к 28-м суткам жизни регистрирова-

Изменение средних значений сывороточной концентрации VEGF у новорожденных в зависимости от результатов НСГ

Статистические показатели	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
1-я проба (48 ч жизни)				
M±SD, нг/мл	170,3±91,97**	173,68±125,94**	182,12±119,32**	151,48±106,95**
min-max, нг/мл	27,11-657,96	18,8-301,74	50,3-192,04	11,09-277,03
2-я проба (7-е сутки жизни)				
M±SD, нг/мл	250,6±132,24	108,0±68,96*,**	186,141±129,2	119,15±74,46**
min-max, нг/мл	23,56-615,07	53,81-371,8	30,7-301,23	13,09-126,22
3-я проба (28-е сутки жизни)				
M±SD, нг/мл	376,76±185,59**	78,54±37,01*,**	117,46±84,91*,**	53,22±40,96*,**
min-max, нг/мл	27,01-646,1	4,6-116	19,93-151,65	0-89,06

*Достоверность различий средних показателей сывороточной концентрации VEGF от контрольной группы по методу Манна-Уитни (p<0,01); **достоверные различия концентрации проб внутри группы (по методу Вилкоксона) (p<0,01).

Таблица 3

Средние концентрации BDNF и VEGF у новорожденных в зависимости от исхода заболевания по критерию «выжившие-умершие»

Исходы	Статистические данные (M±SD)				
	BDNF, нг/мл		VEGF, нг/мл		
	1-я проба	2-я проба	1-я проба	2-я проба	3-я проба
1-я группа (без структурных изменений на НСГ)					
Выжившие	5,4±2,9	4,1±1,7	224,87±152,05	225,87±143,35*	267,06±213*
Умершие	3,56±3,5	2,99±1,2	172,58±70,46	95,4±90,78*	60,16±46,37*
2-я группа (ПВЛ)					
Выжившие	0,58±0,4*	2,96±1,4	225,35±219,58*	233,8±172,01*	122,28±94,16*
Умершие	0,32±0,5*	2,53±2,3	64,47±61,76*	30,46±21,79*	40,57±41,69*
3-я группа (ВЖК)					
Выжившие	11,8±12,3*	6,9±5,5*	197,32±122,43*	221,57±118,75*	207,03±180,6*
Умершие	5,51±7,2*	1,13±1,4*	117,29±53,42*	45,22±43,75*	18,51±16,61*
4-я группа (ПВЛ+ВЖК)					
Выжившие	1,76±1,05*	2,95±1,34	174,35±122,43*	134,39±84,5*	70,53±34,53*
Умершие	0,25±0,19*	2,18±2,07	98,13±20,25*	83,6±28,56*	12,83±14,39*

*Достоверно различаются значения (группирующая переменная – результат), выделено жирным шрифтом – достоверно отличаются от контрольной группы (p<0,01).

лись крайне низкие значения сывороточной концентрации VEGF – от 0 до 27,01 нг/мл. Данные представлены в табл. 2.

Также оценивали показатели концентрации исследуемых факторов в зависимости от исхода заболевания (выжившие-умершие). Данные представлены в табл. 3. Из приведенных данных видно, что у новорожденных без структурных изменений и с ВЖК, как у выживших, так и у умерших, уровень BDNF был увеличенным соответственно до 2 раз, а в группе с ВЖК – в среднем до 4 раз, но у выживших в группе с ВЖК наблюдались 3 новорожденных, сывороточный уровень BDNF у которых был 22,7; 29 и 44,96 нг/мл. В дальнейшем у них отмечался неблагоприятный неврологический прогноз. У новорожденных с ПВЛ и сочетанными формами поражения на НСГ отмечалась тенденция к снижению концентрации BDNF: средние показатели у выживших – от 0,58 до 1,75 нг/мл, а у умерших – от 0,25 до 0,32 нг/мл. Низкое, практически следовое содержание нейротрофина (0,03 нг/мл в 1-е сутки и 0,01 нг/мл в 3-5 суток) имело место у крайне тяжелых пациентов, впоследствии умерших.

Анализируя сывороточный уровень VEGF, в 1-й группе различия между показателями у выживших и умерших отмечались с 7-х суток жизни: уровень у выживших был в 3 раза выше, а к 28-м суткам – в 4 раза. У новорожденных со структурными изменениями на НСГ различия в концентрации VEGF отмечались с 48 ч жизни. К 7-м суткам жизни разница в уровне сывороточной концентрации VEGF достигала от 2 до 8 раз во 4-й и 2-й группах соответственно и в 4,5 раза у новорожденных с ВЖК. Снижение концентрации VEGF свидетельствует об угнетении процессов васкулогенеза в случаях тяжелых поражений ЦНС, особенно при неблагоприятном исходе заболевания.

При изучении динамики сывороточного уровня CNTF мы выявили, что у новорожденных 1-й группы (без структурных изменений головного мозга на НСГ) и у детей с постгипоксической ПВЛ (2-я группа) эндогенный уровень CNTF не определялся в сыворотке крови. Возможно, это связано с тем, что при описанных выше нарушениях CNTF не проникает через гематоэнцефалический барьер. В группах с геморрагическими

Таблица 4

Корреляционные связи исследуемых факторов с развитием структурных изменений на НСГ

Исследуемые факторы	Контрольная группа	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	
BDNF	Корреляционной связи нет	Корреляционной связи нет	-0,63	-	-0,68	
CNTF			Не определяется в сыворотке крови		0,68	0,94
VEGF			Корреляционной связи нет			

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

Таблица 5

Корреляционные связи исследуемых факторов с летальным исходом

Исследуемые факторы	Контрольная группа	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
BDNF	Корреляционной связи нет	-	-0,72	-	-0,84
CNTF		Не определяется в сыворотке крови			
VEGF*		-	-0,6	-0,62	-0,79

*VEGF2 – концентрация во 2-й пробе; указаны только сильные корреляционные связи ($R>0,6$; $p<0,01$).

и комбинированными формами постгипоксических изменений головного мозга на НСГ (ВЖК и сочетание ВЖК и ПВЛ) CNTF определялся в сыворотке крови уже в первые 48 ч жизни. Говоря об этих группах новорожденных, необходимо отметить, что характер изменения сыровоточного уровня CNTF был идентичен. Все данные достоверно ($p<0,01$) отличались от контрольной группы при сравнении по методу Манна–Уитни. На рис. 1 и 2 представлены данные о концентрации CNTF в сыворотке крови у новорожденных с ВЖК и комбинированным поражением (ВЖК и ПВЛ) в зависимости от исхода заболевания по критерию «выжившие–умершие».

При анализе полученных данных обращало на себя внимание, что у новорожденных с ВЖК концентрация CNTF в сыворотке крови досто-

верно ($p<0,01$) отличалась у умерших и выживших за весь период наблюдения, а у детей с сочетанным поражением головного мозга достоверные различия ($p<0,01$) фиксировались только в течение 14 суток жизни.

С 12–14-х суток жизни у новорожденных с ВЖК увеличивалась разница в уровне CNTF в сыворотке крови у выживших и умерших детей, средние значения были равны соответственно $28,76\pm 12,18$ и $21,02\pm 7,3$ мкг/л. К 24–28-м суткам жизни разница в концентрации CNTF достигала 3-кратной величины: у выживших средняя концентрация CNTF была равна $24,7\pm 6,42$ мкг/л, а у умерших – $8,04\pm 1,3$ мкг/л.

У детей с сочетанным поражением головного мозга (ВЖК и ПВЛ) в течение первых 2 недель жизни концентрация CNTF в сыворотке крови у выживших новорожденных была в 2 раза выше, чем у умерших и была равна соответственно $12,7\pm 2,2$ и $6,07\pm 1,8$ мкг/л в первые 48 ч жизни и $14,08\pm 2,5$ и $7,06\pm 2,32$ мкг/л к 5–7-м суткам жизни. Но к 24–28-м суткам достоверных различий в концентрации CNTF не выявлялось: у выживших детей уровень CNTF был равен $10,4\pm 2,76$ мкг/л, у умерших – $6,3\pm 0,9$ мкг/л.

Сравнивая уровень CNTF у выживших новорожденных в этих группах, можно отметить, что в течение 1-й недели жизни он отличался незначительно (в среднем на 1 мкг/л выше у новорожденных с ВЖК), но к концу 2-й недели жизни у новорожденных с ВЖК уровень CNTF в сыворотке крови становился в 1,5 раза выше, чем у детей с сочетанным поражением головного мозга и составлял соответственно $28,76\pm 12,18$ и $19,02\pm 1,86$ мкг/л. Но к 24–28-м суткам жизни разница в уровне CNTF увеличивалась в 2,4 раза и была равна соответственно $24,7\pm 6,42$ и $10,4\pm 2,76$ мкг/л.

Динамика концентрации CNTF у умерших новорожденных в течение 1-й недели жизни была следующей: его уровень в сыворотке крови был в 1,5 раза выше у детей с ВЖК, чем при соче-

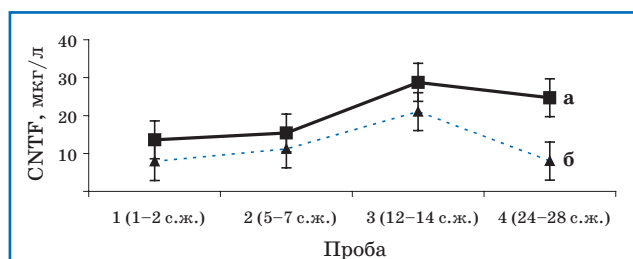


Рис. 1. Показатели концентрации CNTF у новорожденных с ВЖК в зависимости от исхода заболевания по критерию «выжившие–умершие». Здесь и на рис. 2: а – выжившие, б – умершие.

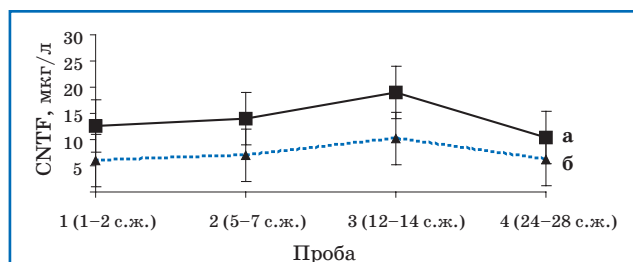


Рис. 2. Показатели концентрации CNTF у новорожденных с сочетанным поражением (ВЖК и ПВЛ) головного мозга в зависимости от исхода заболевания по критерию «выжившие–умершие».

танном поражении головного мозга – соответственно $11,2 \pm 1,6$ и $7,06 \pm 2,32$ мкг/л. К 12–14-м суткам жизни разница в уровне CNTF возрастала в 2 раза и была равна соответственно $21,02 \pm 7,3$ и $10,23 \pm 0,98$ мкг/л, а к 4-й неделе жизни несколько уменьшалась – $8,04 \pm 1,3$ и $6,3 \pm 0,9$ мкг/л соответственно.

Характеризуя выявленные изменения, можно говорить о том, что обнаружение CNTF в сыворотке крови на 1-й неделе жизни связано с прорывом ГЭБ при развитии ВЖК. Последующее увеличение концентрации CNTF связано с реализацией его трофических возможностей, которые значительно выше при развитии изолированного ВЖК.

При комбинации ВЖК с ПВЛ не отмечалось такого же повышения уровня CNTF, что вызвано истощением глиальных элементов, синтезирующих CNTF, и недостаточностью защитных механизмов при развивающемся в этом случае глиозе ткани.

Анализируя уровень CNTF в сыворотке крови в зависимости от исхода заболевания, достоверно ($p < 0,01$) значимой была концентрация антигена в 1-й, 3-й и 4-й пробах.

Данные, характеризующие корреляционные связи между уровнями исследуемых факторов и формированием постгипоксических структурных изменений головного мозга, представлены в табл. 4.

В работе также выявлена корреляция исследуемых факторов с летальным исходом заболевания (табл. 5).

При дополнительном анализе к факторам, достоверно коррелирующим с летальным исходом заболевания, относятся: изменения на НСГ, масса тела при рождении, длительность ИВЛ, внутриутробная гипотрофия, транспортировка в отделение реанимации, судороги, оценка по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах, концентрация CNTF в сыворотке крови в 1-е сутки жизни и в период с 14-х по 28-е сутки жизни, концентрация BDNF в 1-й и 2-й пробах, концентрация VEGF со 2-й недели жизни ребенка.

Заключение

Связь морфологических изменений ЦНС с нейротрофическими и ростовыми факторами при гипоксически-ишемическом поражении мозга у новорожденных чрезвычайно важна и свидетельствует, что программированная смерть клеток находится в тесной зависимости от трофического обеспечения нейронов.

Среди нейротрофических факторов рассматривались преимущественно глиальные факторы (BDNF – астроглия и нейроны). Роль этих веществ в патогенезе гипоксии у новорожденных была изучена недостаточно. Перед педиатрами и неврологами, занимающимися новорожденными высокого риска, всегда встает вопрос: разовьется ли ПВЛ у ребенка с повышенной экзогенностью перивентрикулярных зон? Что лежит в основе таких изменений? Нанотехнологии, применяемые в современной иммуноферментной

диагностике, позволяют исследовать молекулярные соединения, которые играют в трофообеспечении важную роль.

В работе показаны достоверные различия в концентрации нейротрофинов и VEGF у новорожденных с повышенной экзогенностью перивентрикулярных зон с формированием и без трансформации в ПВЛ. В первом случае всегда отмечалось повышение исследуемых факторов, а при формировании ПВЛ снижение BDNF регистрировалось уже в первые сутки жизни. Уровень нейротрофина находился в прямой корреляционной зависимости с концентрацией VEGF ($R=0,62$).

Концентрации трофических и ростовых факторов – BDNF и VEGF – напротив, были повышены у детей без структурных изменений головного мозга на НСГ: нейротрофический фактор головного мозга повышался у детей без структурных изменений в первые 48 ч жизни в 1,5–2 раза по сравнению с контрольными значениями, при ишемических поражениях – значительно снижался в 3–5 раз (по сравнению с контрольными значениями), минимальные значения регистрировались при сочетанном поражении – развитии ВЖК и формировании ПВЛ.

Важно отметить, что в случае развития ВЖК концентрация нейротрофического фактора увеличивалась в 4 раза по сравнению с контрольными значениями, но к 3–5-м суткам снижалась. Это связано с тем, что в случае геморрагического инсульта отмечается резкий выброс BDNF в кровотоки, а также с разрушением клеточных элементов – разница в сывороточной концентрации увеличивается при высвобождении BDNF при дегрануляции тромбоцитов и свертывании крови. Интересна в этом случае корреляция BDNF и CNTF ($R=0,61$). Последний обнаруживался в сыворотке крови только при формировании геморрагических и ишемически-геморрагических постгипоксических структурных изменений головного мозга. В случае развития изолированного ВЖК к 14-м суткам фиксировался пик значений CNTF, превышающий первоначальные показатели в 3 раза.

При комбинации ВЖК с ПВЛ не отмечалось такого же повышения уровня антигена (более низкая исходная концентрация, подъем уровня к 14-м суткам жизни в 1,8 раза), что, вероятно, вызвано истощением глиальных элементов, синтезирующих CNTF, и недостаточностью защитных механизмов при развивающемся в этом случае глиозе ткани. Таким образом, нейротрофические факторы при развитии геморрагических инсультов могут быть ранними маркерами поражения, а динамика их концентрации в сыворотке крови служить прогностическими критериями при определении прогноза заболевания. У выживших новорожденных концентрация нейротрофических факторов достоверно превышала концентрацию у умерших.

Динамика VEGF была следующей: при формировании ишемических и сочетанных форм изменений головного мозга к 5–7-м суткам кон-

центрация его достоверно снижалась по сравнению с пробой в 1-е сутки жизни, а к 4-й неделе жизни снижалась в случае сочетанного поражения в 4 раза. VEGF не может выступать маркером поражения в острейшем периоде (до 5 дней жизни), так как его концентрация исходных уровней в сыворотке крови достоверно не отличается от контрольной группы. Однако его снижение к концу 1-й недели жизни позволяет достоверно прогнозировать формирование постгипоксических изменений головного мозга. Снижение VEGF у новорожденных со структурными изменениями на НСГ к 4-й неделе жизни совпадает с формированием глиозного рубца.

Новорожденные, испытывавшие хроническую внутриутробную гипоксию и острую асфиксию в родах, с морфофункциональной незрелостью и малым ГВ имеют самое низкое содержание нейротрофического фактора BDNF, обладающего протективным воздействием на нервные клетки. Такие дети не способны адекватно перенести гипоксический стресс и, вероятнее всего, это одна из причин развивающегося тяжелого гипоксически-ишемического поражения мозга. Напротив, у новорожденных с повышенным в 2–3 раза сывороточным содержанием BDNF в 1-е сутки после рождения, даже при перенесенной тяжелой гипоксии–ишемии мозга, в дальнейшем не формируются структурные изменения ЦНС. Самая низкая концентрация нейротрофина отмечалась у новорожденных с ишемическими поражениями

– ПВЛ и сочетанным поражением – преобладают факторы деструктивного воздействия.

Во всех случаях наблюдения при индивидуальной оценке низкий уровень концентрации VEGF был отмечен у детей со сформировавшимися тяжелыми постгипоксическими изменениями, его сывороточная концентрация прямо коррелировала с уровнем нейротрофина BDNF. При благоприятном течении заболевания у всех новорожденных отмечалось значительное увеличение сывороточного уровня VEGF до 450–620 нг/мл, что свидетельствует об активном ангиогенезе, позволяющем компенсировать последствия тяжелой гипоксии–ишемии мозга.

CNTF рассматривается как ключевой фактор дифференцировки для развивающихся нейронов и глиальных клеток. CNTF обеспечивает трофику и участвует в защите поврежденных или аксонотомированных нейронов. Также предположительно этот нейротрофический фактор участвует в дифференцировке глии.

Адекватная экспрессия нейротрофических и ростовых факторов при острой тяжелой гипоксии позволяет реализовать возможности клеточных механизмов, обуславливающих защиту нейронов и глиальных элементов.

Источник финансирования и конфликт интересов: авторы подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования и конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

Литература

1. *Гомазков О.А.* Апоптоз нейрональных структур и роль нейротрофических ростовых факторов. Биохимические механизмы эффективности пептидных препаратов мозга. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2002; 7 (Приложение): 17–21.
2. *Fern R.* Ischemia: astrocytes show their sensitive side. Progress in Brain Res. 2001; 132: 405–411.
3. *Перлман Дж.* Неврология. Проблемы и противоречия в неонатологии: Пер. с англ. М.: Логосфера, 2015: 32–68.
4. *Partridge WM.* Neurotrophins, neuroprotection and the blood-brain barrier. Curr. Opin. Investig. Drugs. 2002; 3 (12): 1753–1757.
5. *Голосная Г.С.* Роль ингибиторов апоптоза в диагностике и прогнозировании исходов перинатальных гипоксических поражений головного мозга у новорожденных. Педиатрия. 2005; 84 (3): 30–35.
6. *Голосная Г.С., Яковлева А.В., Воронкова К.В., Нестеровский Ю.Е., Беляетдинова И.Х., Зиненко Д.Ю., Баразунова В.Х., Пастарнак А.Ю., Трепилец С.В.* Диагностическое значение определения цилиарного нейротрофического фактора (CNTF) у новорожденных с гипоксически-геморрагическим поражением ЦНС. Педиатрия. 2013; 92 (2): 63–67.
7. *Могрун А.В., Кувачева Н.В., Хиладжева Е.Д., Горина Я.В., Таранушенко Т.Е., Пожиленкова Е.А., Салмина А.Б.* Перинатальное поражение центральной нервной системы и возможности восстановления гематоэнцефалического барьера. Вопросы практической педиатрии. 2015; 4: 29–37.
8. *Петрухин А.С., Голосная Г.С., Терентьев А.А., Маркевич К.А., Дуленков А.Б.* Использование специфических белков нервной ткани в диагностике внутрижелудочковых кровоизлияний и перивентрикулярной лейкомаляции у новорожденных. Нейрохимия. 2004; 21 (4): 293–301.
9. *Volpe JJ.* Neurology of the Newborn. Philadelphia, PA: Saunders, 1995.
10. *Hagg T, Quon D, Higaki J, Varon S.* Ciliary neurotrophic factor prevents neuronal degeneration and promotes low affinity NGF receptor expression in the adult rat CNS. Neuron. 1992; 8: 145–158.
11. *Моргун А.В., Рузаева В.А., Бойцова Е.Б., Таранушенко Т.Е., Мартынова Г.П., Тохидпур А., Салмина А.Б.* Современные возможности идентификации новых молекулярных мишеней для фармакологической проницаемости гематоэнцефалического барьера. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015; 79 (12): 41–50.
12. *Nagidyma N, Komen W, Ko H, et al.* Early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy after birth asphyxia. Pediatr. Res. 2001; 49: 502–506.
13. *Louis JC, Magal E, Takayama S, Varon S.* CNTF protection of oligodendrocytes against natural and tumor necrosis factor-induced death. Science. 1993; 259: 689–692.
14. *Tabakman R, Lecht S, Sephanova S, Arien-Zakay H, Lazarovici P.* Interactions between the cells of the immune and nervous system: neurotrophins as neuroprotection mediators in CNS injury. Prog. Brain Res. 2004; 146: 387–401.
15. *Whitelaw A, Rosengren L, Blennow M.* Brain specific proteins in posthaemorrhagic ventricular dilatation. Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed. 2001; 84 (2): 190–191.
16. *Wolf R, Schäbitz, Sommer Cl, Zoder W, Kiessling M, Schwabinger M, Schwab St.* Intravenous brain-derived neurotrophic factor reduces infarct size and counterregulates Bax and Bcl-2 expression after temporary focal cerebral ischemia. Stroke. 2000; 31: 2212.
17. *Fukui K, Morioka T, Kawamura T, Hirokawa E, Nishio S, Mihara F, Nakanami N, Yamamoto J.* Fetal germinal matrix and intraventricular hemorrhage associated with periventricular leukomalacia. No. To. Shinkei. 2002; 54 (7): 609–614.
18. *Голосная Г.С., Петрухин А.С., Терентьев А.А., Дуленков А.Б.* Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) в ранней диагностике внутрижелудочковых кровоизлияний и перивентрикулярной лейкомаляции у новорожденных детей. Вопросы современной педиатрии. 2005; 4 (3): 13–18.
19. *Liao SL, Lai SH, Chou YH, Kuo CY.* Effect of hypoxemia in the first three days of life on the subsequent development of periventricular leukomalacia in premature infants. Acta Paediatr. Taiwan. 2001; 42 (2): 90–93.
20. *Рославцева В.В., Салмина А.Б., Прокопенко С.В., Пожиленкова Е.А., Кобаненко И.В., Резвицкая Г.Г.* Сосудистый эндотелиальный фактор роста в регуляции развития и функционирования головного мозга: новые молекулярные мишени для фармакотерапии. Биомедицинская химия. 2016; 62 (2): 124–133.