

СТЕПЕНЬ ВЫРАЖЕННОСТИ НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА НА ОСНОВЕ ОЦЕНКИ НЕЙРОБИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

О.Н. КРАСНОРУЦКАЯ, Е.А. БАЛАКИРЕВА, Д.Ю. БУГРИМОВ, Л.Н. ЦВЕТИКОВА, Т.Н. ПЕТРОВА

ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н.Бурденко», ул. Студенческая, д.10, г. Воронеж, Россия, 394000

Аннотация. У детей первых месяцев жизни, не всегда отражается истинная картина тяжести и степень поражения ЦНС, а исход заболевания, в том числе и неблагоприятный, становится очевидным лишь к 9-12 месяцам жизни, что обусловлено целым рядом особенностей, оцениваемых как феномены самозащиты. Биохимическим факторам риска развития различных заболеваний и их осложнений, в частности показателям окислительного стресса, перекисного окисления липидов, окислительной модификации белков и антиоксидантной защиты, нейроспецифическим факторам, участвующим в процессах созревания, дифференцировки и поддержания жизнеспособности нейронов головного мозга уделяется много внимания в современной отечественной и зарубежной литературе не полностью раскрыт диагностический потенциал исследуемых маркеров у детей. Цель исследования. Определение маркеров неврологического дефицита у детей раннего возраста на основании нейротрофических факторов, показателей окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции. Материалы и методы. Было проведено комплексное обследование 134 детей (61 мальчик и 73 девочки) в возрасте от 0 до 9 месяцев, с оценкой неврологического статуса и биохимических маркеров. Результаты исследования. первым компонентом нервной ткани головного мозга, реагирующим на гипоксию, являлось микроглиальное окружение, поражением которого обусловлен рост S100-белка (т.е. нейрон на этапе группы 0-1 мес. еще не подвергался метаболическим изменениям – об это свидетельствуют низкие уровни СОД и МДА).

Ключевые слова: неврологический статус, маркер, дети.

SEVERITY OF NEUROLOGICAL DEFICIENCY IN THE CHILDREN OF EARLY AGE BY MEANS OF NEUROBIOCHEMISTRY MARKERS ASSESSMENT

O.N. KRASNORUTSKAYA, E.A. BALAKIREVA, D.YU. BUGRIMOV, L.N. TSVETKOVA, T.N. PETROVA

Voronezh State Medical Academy after N.N. Burdenko, Street Student, 10, Voronezh, Russia, 394000

Abstract. The true picture of the severity and the degree of central nervous system (CNS) in children of the first months of life, doesn't is always reflected. The outcome of the disease, including unfavorable, is obvious only to the 9-12 months of age due to the features that are assessed as the phenomena of self-defense. A lot of attention in modern Russian and foreign literature is given to the biochemical risk factors for the development of various diseases and their complications, in particular the indicators of oxidative stress, lipid peroxidation, oxidative modification of proteins and antioxidant defense, neurospecific factors involved in the processes of maturation, differentiation and maintain the viability of brain neurons. However, the diagnostic potential of the investigated markers in children didn't revealed. Purpose of this study is determination of markers of neurological deficits in infants on the basis of neurotrophic factors, indicators of oxidative stress and endothelial dysfunction. Materials and methods. Comprehensive survey of 134 children (61 boys and 73 girls) aged from 0 to 9 months was carried out with the assessment of neurological status and biochemical markers. Results of study. The first component of the nervous tissue of the brain, responding to hypoxia, is microglial environment, which is caused by the growth of lesions S100- protein (i.e., the neuron at the stage of 0-1 months didn't been metabolic changes - this is evidence of low levels of SOD and MDA).

Key words: neurologic status, marker, children.

Клиническая симптоматика неврологического дефицита у детей первых месяцев жизни, не всегда отражает истинную тяжесть и степень поражения *центральной нервной системы* (ЦНС), а исход заболевания, в том числе и неблагоприятный, становится очевидным лишь к 9-12 месяцам жизни, что обусловлено целым рядом особенностей, оцениваемых как феномены самозащиты [2, 3]. К ним относят повышенную толерантность развивающегося мозга к гипоксии, его нейропластичность, минимизацию очага повреждения за счет нейротрофических факторов, ауторегуляцию мозгового кровотока и перераспределение крови в головном мозге. В связи с этим особую актуальность приобретает прижизненная оценка изменений, возникающих в клетках нервной ткани в постнатальном периоде. Биохимическим факторам риска развития различных заболеваний и их осложнений, в частности показателям окислительного стресса, перекисного окисления липидов, окислительной модификации белков и антиоксидантной защиты, нейроспецифическим

факторам, участвующим в процессах созревания, дифференцировки и поддержания жизнеспособности нейронов головного мозга уделяется много внимания в современной отечественной и зарубежной литературе не полностью раскрыт диагностический потенциал исследуемых маркеров у детей [1, 6-8]. Экспериментальные исследования участия нейропептидов и нейротрофических факторов в ишемических повреждениях мозга и процессах нейроапоптоза проводились только у новорожденных детей и беременных, при этом абсолютно не учитывались маркеры эндотелиальной дисфункции – гомоцистеин и ангиотензин [1, 5]. Полученные результаты не отвечали, в полной мере, потребностям диагностики состояния восстановительного периода в течение первого года жизни. Кроме того, на сегодняшний момент не выработано согласованности между специалистами в вопросах выбора диагностических нейробиохимических показателей в качестве прогностических критериев [4,5], отражающих структурно-функциональные повреждения ЦНС, зависимость их от клинко-инструментального обследования, тяжести состояния, от сроков начала лечения и его продолжительности, от формы контроля его эффективности [1,3].

Цель исследования – определение маркеров неврологического дефицита у детей раннего возраста на основании нейротрофических факторов, показателей окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции.

Материалы и методы исследования. Было проведено комплексное обследование 134 детей (61 мальчик и 73 девочки) в возрасте от 0 до 9 месяцев (табл. 1).

Таблица 1

Общая характеристика картины исследования пациентов

возраст / группы	группа сравнения	I (пац.)	II (пац.)	III (пац.)	IV (пац.)
0-1 мес.	7	5	13	4	2
2-3 мес.	6	9	14	8	2
4-6 мес.	9	5	13	4	2
7-9 мес.	6	6	12	5	2
Итого пациентов в исследовании		134			

На основе полученных физикально-инструментальных данных были сформированы 2 основные исследовательские группы: группа сравнения – контрольная (n=28) и группа пациентов с перинатальным поражением ЦНС (n=106), разделенных на 4 подгруппы по степени тяжести суммарного неврологического дефицита: 1 группа (легкая степень тяжести – 1-2 балла) – 25 чел, 2 группа (средняя степень тяжести – 3-5 баллов) – 52 чел, 3 группа (тяжелое течение – 6-8 баллов) – 21 чел и 4 группа (крайне тяжелое течение – 9-10 баллов) – 8 чел. В свою очередь, данные группы были поделены на 4 возрастные категории: 0-1, 2-3, 4-6 и 7-9 месяцев. Степень тяжести неврологического дефицита оценивался по 10 балльной шкале: симптомы внутричерепной гипертензии (симптом Грефе, симптом заходящего солнца, запрокидывание головы, расхождение швов, нарастание окружности головы в динамике), мышечный тонус, сухожильные рефлексы, снижение силы, пирамидные знаки, рефлексы новорожденных, симптомы поражения шейного отдела позвоночника, асимметрия положения, головы, тонуса, рефлексов; отклонение от нормы моторного, психического и речевого развития. Снижение мышечного тонуса и сухожильных рефлексов брались как отрицательный балл (-1). Аналогично оценивалось наличие жалоб на отклонение поведения, нарушение сна, пароксизмальные состояния, снижение двигательной активности, срыгивание, необоснованное беспокойство, возбуждение, метеозависимость. Наличие отклонений подтверждающих неврологический дефицит при дополнительных методах обследования оценивался аналогично по 3-х балльной шкале. Например: возрастная норма головного мозга при ультразвуковом исследовании головного мозга – 0 баллов, вентрикуломегалия с перивентрикулярными кистами – 3 балла. Балльная оценка клинической, анамнестической и анатомо-физиологической картины проводилась в соответствии с возрастными нормами. Группу сравнения составили 28 условно здоровых детей того же возраста. Состояние при рождении этих детей расценено как удовлетворительное, оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Нервно-психический статус и физическое развитие соответствовали возрасту. Дети находились на стационарном обследовании и лечении по поводу: физиологической желтухи – 32% (9 чел.); острой аллергической реакции – 39% (11 чел.); инфекции мочевыводящих путей – 29% (8 чел.) обследуемых. Критериями исключения являлись наследственная и хромосомная патология, врожденные пороки развития головного мозга, а также аутоиммунные и септические заболевания. Для оценки факторы риска и динамики клинических проявлений перинатального поражения ЦНС на первом году жизни проводилась оценка соматического здоровья женщин, репродуктивный и гинекологический анамнез, особенности течения и осложнения беременности и родов. Таким образом, к факторам риска гипоксически-ишемического поражения ЦНС у детей можно отнести наличие у женщин в анамнезе курения, хронических и острых соматических и/или гинекологических заболеваний, ранний токсикоз (в срок до 12 нед. беременности), гестоз второй половины беременности, угрозу прерывания в I триместре, хроническую гипоксию плода и родоразрешение

путем кесарева сечения. Данные факторы потенцируют диффузную ишемию с каскадом биохимических реакций, приводящих в конечном итоге к двум вариантам развития событий: пикнозу или апоптозу, которые собственно и обуславливают последствия перинатального поражения нервной системы. Таким образом, для оценки всех этапов предшествующих развитию, возможности обратимости и прогноза пат. процесса поражения нервной ткани, нами были выбраны следующие биохимические маркеры оценки: *малонового диальдегида* (МДА), *супероксиддисмутаза* (СОД), ангиотензин II, гомоцистеин, белок S100, фактор роста нервов.

Результаты и их обсуждение. В результате оценки уровня гомоцистеина установлено, что (табл. 2) по мере перехода пациентов от 1 до 4 группы исследования достоверно ($p < 0,05$) повышался уровень маркера во всех возрастных группах (в среднем от 6,9 до 21-22 пг/мл в максимальных значениях). Такая картина характеризует прямую корреляционную ($r=0,75$) взаимосвязь сосудистого компонента поражения и неврологической симптоматики по степени поражения ЦНС. При этом, было установлено, что у 2 пациентов возрастной группы 2-3 мес, у которых уровень гомоцистеина на фоне поражения ЦНС не изменялся, что может свидетельствовать о другой этиологии поражения нервной системы.

Таблица 2

Динамика содержания гомоцистеина (пг/мл) в сыворотке крови детей в исследовании

группы возраст	группа сравнения	I группа	II группа	III группа	IV группа
0-1 мес.	7,4±0,8	11,4±0,8*	14,2±1,1*	18,2±2,4	24,2±1,6
2-3 мес.	7,1±0,2	12,7±0,4*	13,1±1,1	16,4±2,1	21,7±0,8*
4-6 мес.	6,4±0,4	11,4±0,4	15,4±1,4*	17,5±1,2*	24,7±1,8
7-9 мес.	6,1±0,2	14,2±1,1	16,1±1,7*	19,4±1,6*	23,7±1,2*

Примечание (здесь и далее): * – $p < 0,05$

Оценка значений ангиотензина II показало (табл. 3), что по сравнению с контрольной группой сравнения этот показатель достоверно ($p < 0,05$) возрастал во всех группах отбора пациентов по поражению ЦНС.

Таблица 3

Динамика содержания ангиотензина II (пг/мл) в сыворотке крови детей в исследовании

группы возраст	Группа сравнения	I Группа	II группа	III группа	IV группа
0-1 мес.	0,008±0,001	0,01±0,005*	0,07±0,05	0,11±0,04	0,21±0,05*
2-3 мес.	0,009±0,002	0,015±0,005	0,09±0,04*	0,1±0,02*	0,22±0,06
4-6 мес.	0,008±0,001	0,01±0,006*	0,09±0,05*	0,18±0,01	0,19±0,05*
7-9 мес.	0,01±0,005	0,015±0,005	0,08±0,08	0,16±0,04*	0,24±0,04

Наибольших значений и положительных корреляционных связей ($r=0,85$) этот маркер достиг в 3 и 4 группах возрастной разбивки 4-6 мес. и 7-9 мес. соответственно (табл. 3). Но, так как и при анализе гомоцистеина у 2 пациентов (у 1 из предыдущей группы анализа) значения маркера были сопоставимы с данными группы сравнения, но по критериям поражения ЦНС относились к 3 и 4 группам выбора.

Таблица 4

Динамика содержания S100-белка (пг/мл) в сыворотке крови детей в исследовании

группы возраст	Группа сравнения	I группа	II группа	III группа	IV группа
0-1 мес.	300±43,5	320±21,4*	351±24,1	378±31,8*	401±36,1*
2-3 мес.	225,4±85,7	290±19,8*	341±30,1*	369±28,6	398±28,1*
4-6 мес.	213,2±46,8	295±22,1	339±28,4*	386±31,7*	404±31,2*
7-9 мес.	212,3±56,3	287±21,4*	327±26,4*	364±34,1	380±41,4

В результате проведенного анализа сыворотки крови детей установлено, что глиальный компонент нервной ткани ЦНС реагировал на поражение каскадно: вызывая положительную высокую корреляцию ($r=0,8$) с симптоматикой и количественно вызывая стойкую достоверную ($p < 0,05$) математическую прогрес-

сию от 1 до 4 степени независимо от возрастной градации пациентов (табл. 4). При этом, вновь было установлено 4 пациентов (у 1 по гомоцистеину и ангиотензину подобно, а у 1 – только по гомоцистеину), что несмотря на выраженность клинических проявлений поражения ЦНС уровень маркера не изменялся.

Таблица 5

Динамика содержания фактора роста нервов (NGF) (пг/мл) в сыворотке крови детей в исследовании

группы возраст	группа сравнения	I группа	II группа	III группа	IV группа
0-1 мес.	8,1±3,86	7,6±1,83*	6,8±1,57	4,5±1,28*	3,6±1,67
2-3 мес.	8,8±4,07	7,6±1,77*	6,2±1,24*	4,4±1,29*	3,4±1,28*
4-6 мес.	8,5±2,61	7,4±1,84	6,2±1,25*	4,2±1,68	3,8±1,64*
7-9 мес.	8,5±2,31	7,3±0,95	6,1±1,62	4,4±1,29	3,4±1,28*

Фактор роста нервов в условиях нарастания неврологической симптоматики от 1 до 4 группы тяжести заметно и достоверно ($p < 0,05$) снижался во всех возрастных группах более чем в 2 раза (табл. 5).

Таблица 6

Динамика содержания МДА (пг/мл) в сыворотке крови детей в исследовании

группы возраст	Группа сравнения	I группа	II группа	III группа	IV группа
0-1 мес.	0,4±0,02	0,51±0,04	0,69±0,02	0,89±0,07*	1,02±0,08*
2-3 мес.	0,4±0,06	0,54±0,03*	0,71±0,03	0,84±0,03*	1,04±0,04*
4-6 мес.	0,38±0,07	0,52±0,04*	0,7±0,04*	0,9±0,06	1,03±0,02
7-9 мес.	0,38±0,04	0,57±0,02*	0,76±0,03	0,89±0,07*	1,02±0,01*

При этом среднее его значения по группам тяжести не отличались между собой (табл. 5). При анализе данного маркера было установлено, что у 3 пациентов, при выраженной клинической симптоматике, величины критерия не менялись.

Анализ маркеров окислительного стресса показал, что МДА и СОД (табл. 6, 7) достоверно ($p < 0,05$) повышались в зависимости от степени выраженности неврологической симптоматики независимо от возраста пациентов. При этом СОД повышался достоверно в среднем в 5-6 раз, а МДА – в 2-2,5 раза по сравнению с группами сравнения. При этом оба эти показателя коррелировали ($r = 0,85$ и $r = 0,75$ соответственно) со степенью поражения центральной нервной системы у групп пациентов.

Таблица 7

Динамика содержания СОД (пг/мл) в сыворотке крови детей в исследовании

группы возраст	Группа сравнения	I группа	II группа	III группа	IV группа
0-1 мес.	0,231±0,012	0,368±0,03*	0,68±0,03*	0,84±0,07*	1,03±0,07*
2-3 мес.	0,247±0,024	0,349±0,018	0,84±0,02	0,82±0,04	1,07±0,03*
4-6 мес.	0,298±0,061	0,367±0,02*	0,71±0,07*	0,91±0,06	0,94±0,17
7-9 мес.	0,264±0,038	0,374±0,047	0,67±0,09*	0,89±0,04	1,11±0,06*

Таким образом, после проведенного количественного анализа выбранных маркеров оценки поражения ЦНС можно сделать вывод:

- гипоксия – как основной механизм развития патологического процесса в ЦНС являлся доминирующим фактором (рост гомоцистеина и ангиотензина II был в прямой геометрической прогрессии от степени поражения ЦНС), вызванным прямым спазмом сосудов.
 - первым компонентом нервной ткани головного мозга, реагирующим на гипоксию, являлось микроглиальное окружение, поражением которого обусловлен рост S100-белка (т.е. нейрон на этапе группы 0-1 мес. еще не подвергался метаболическим изменениям – об это свидетельствуют низкие уровни СОД и МДА).
 - нейроны «отвечали» на гипоксию вторично, только спустя 2-3 месяца поражения (соответствующая группа исследования): повышался уровень МДА и СОД, снижались значения маркера фактора роста нервов.
- В итоге, можно говорить о следующем, количественно доказанном, механизме развития патологиче-

ского процесса в ЦНС: первичный спазм сосудов вызывал гипоксию, которая в течении 0-1 мес. поражения ткани головного мозга оказывала влияние на микроглиальное окружение, но не затрагивала сам нейрон. Дальнейшее пролонгирование процесса гипоксии приводило к тому, что на сроке 2-3 мес. уже сама нервная клетка подвергалась метаболическим изменениям, которые будут уже труднее поддаваться какой-то ни было медикаментозной коррекции, чем в сроке 0-1 мес.

Литература

1. Кореновский Ю.В., Ельчанинова С.А., Фадеева Н.И. Матриксная металлопротеиназа-9, супероксиддисмутаза и перекисное окисление липидов у недоношенных новорожденных с перинатальной гипоксией // Бюллетень сибирской медицины. 2011. №2. С. 26–30.
2. Saha R.N., Liu X., Pahan K. Up-regulation of BDNF in astrocytes by TNF-alpha: a case for the neuroprotective role of cytokine // J Neuroimmune Pharmacol. 2006. №1. P. 212–222.
3. Gruber H., Hoelscher G., Bethea S., Hanley E. Jr. Interleukin 1-beta upregulates brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin 3 and neuropilin 2 gene expression and NGF production in annulus cells. Biotechnic Histochem. 2012 Aug 3.
4. Romanic A.M., White R.F., Arleth A.J. et al. Matrix metallo-proteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces in-farct size // Stroke. 1998. V. 29. P. 1020–1030.
5. Wong F.Y., Barfield C.P., Walker A.M. Power spectral analysis of two-channel EEG in hypoxiceischaemic encephalopathy // Early Hum Dev 2007. V. 83. P. 379–83.
6. Морозов В.Н., Хадарцев А.А. К современной трактовке механизмов стресса // Вестник новых медицинских технологий. 2010. Т. 17. № 1. С. 15–17.
7. Карасева Ю. В., Морозов В. Н., Хадарцев А. А., Хапкина А. В. Оценка системных механизмов адаптации при нанесении криотравмы по коэффициенту активности синтоксических программ адаптации // Вестник новых медицинских технологий. 2001. Т. 8. №2. С. 39–44.
8. Дармограй В.Н., Карасева Ю.В., Морозов В.Н., Морозова В.И., Наумова Э.М., Хадарцева К.А. Фитоэктодистероиды и фертильные факторы как активаторы синтоксических программ адаптации // Вестник новых медицинских технологий. 2005. Т. 12. №2. С.82-84.

References

1. Korenovskiy YuV, El'chaninova SA, Fadeeva NI. Matriksnaya metalloproteinaza-9, superoksiddismutaza i perekisnoe okislenie lipidov u nedonoshennykh novorozhdennykh s perinatal'noy gipoksiey. Byulleten' sibirskoy meditsiny. 2011;2:26-30. Russian.
2. Saha RN, Liu X, Pahan K. Up-regulation of BDNF in astrocytes by TNF-alpha: a case for the neuroprotective role of cytokine. J Neuroimmune Pharmacol. 2006;1:212-22.
3. Gruber H, Hoelscher G, Bethea S, Hanley EJr. Interleukin 1-beta upregulates brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin 3 and neuropilin 2 gene expression and NGF production in annulus cells. Biotechnic Histochem. 2012 Aug 3.
4. Romanic AM, White RF, Arleth AJ. et al. Matrix metallo-proteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces in-farct size. Stroke. 1998;29:1020-30.
5. Wong FY, Barfield CP, Walker AM. Power spectral analysis of two-channel EEG in hypoxiceischaemic encephalopathy. Early Hum Dev. 2007;83:379-83.
6. Morozov VN, Khadartsev AA. K sovremennoy traktovke mekhanizmov stressa [To modern treatment of stress mechanisms]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2010;17(1)15-7. Russian.
7. Karaseva YuV, Morozov VN, Khadartsev AA, Khapkina AV. Otsenka sistemnykh mekhanizmov adaptatsii pri nanesenii kriotravmy po koeffitsientu aktivnosti sintoksicheskikh programm adaptatsii [The estimation of systemic mechanisms of an adaptation to cryotrauma on factor of an activation of syntoxic adaptive programs]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2001;8(2)39-44. Russian.
8. Darmogray VN, Karaseva YuV, Morozov VN, Morozova VI, Naumova EM, Khadartseva KA. Fitoekdisteroidy i fertil'nye faktory kak aktivatory sintoksicheskikh programm adaptatsii [Phytoecdisteroids and fertility factors as activators of syntoxic programmes of coping]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2005;12(2):82-4. Russian.