

АКУШЕРСТВО ГИНЕКОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИЯ

Включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов и изданий ВАК

2011 • Том 5 • № 2

**Дифференцированный подход
к лечению аденомиоза**

**Состояние гуморального иммунитета
у женщин при опухолевых
заболеваниях матки**

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта <http://www.gynp.ru>. Не предназначено для использования в коммерческих целях. Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел: +74956495495; e-mail: info@irbis-1.ru
Copyright © 2011 Издательство ИРБИС

ОБЪЕКТИВНЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЯЖЕСТИ И ПРОГНОЗА ПЕРИНАТАЛЬНОГО ГИПОКСИЧЕСКИ- ИШЕМИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ЦНС

Блинов Д.В.

ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздравсоцразвития РФ

Резюме: перинатальное гипоксически-ишемическое поражение ЦНС является одной из основных причин смертности и инвалидизации новорожденных. Степень тяжести и прогноз при этом не всегда представляется возможным точно определить методами клинического и инструментального обследования. В качестве маркеров патологических процессов могут рассматриваться нейроспецифические белки (НСБ). Одними из наиболее изученных среди НСБ являются глиофибрилярный кислый протеин (gliofibrillary acid protein – GFAP), структурный белок промежуточных филаментов астроцитов, и нейроспецифическая енолаза (neuron-specific enolase – NSE) – гликолитический цитоплазматический фермент нейронов, катализирующий превращение 2-фосфоглицерата в 2-фосфоенолпируват. Исследование концентрации НСБ в сыворотке крови может быть целесообразным для оценки резистентности ГЭБ, определения степени тяжести поражения ЦНС и прогноза течения заболевания у детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС.

Ключевые слова: НСБ, NSE, GFAP, ГЭБ, гипоксия, ишемия.

Введение

Успехи последних лет в выхаживании недоношенных и преодолении фатальных осложнений острой и хронической внутриутробной гипоксии плода в части случаев имеют следствием увеличение встречаемости стойких неврологических расстройств. Таким образом, гипоксически-ишемическое поражение мозга в перинатальном периоде продолжает являться как одной из основных причин смертности новорожденных, так и развития тяжелой патологии ЦНС с исходом в инвалидизацию [2,33,42].

Современные статистические данные показывают, что у 20-50% новорожденных, которые во внутриутробном периоде и/или во время родов имели систем-

ную гипоксию, развиваются морфофункциональные нарушения со стороны ЦНС. При перинатальном гипоксически-ишемическом поражении головного мозга средней и тяжелой степени наблюдаются необратимые структурные повреждения ЦНС, проявляющиеся клинически в виде различных форм гидроцефалии, вторичной микроцефалии, детского церебрального паралича (ДЦП), судорожных синдромов. Они практически всегда сопровождаются задержкой психомоторного развития различной степени выраженности [2,4,59]. Степень тяжести гипоксически-ишемического поражения ЦНС у новорожденных не всегда представляется возможным точно определить методами клинического и инструментального обследования. Следовательно, прогноз его течения и исхода также оказывается затруднен [9,15,33,59]. Хотя в последние годы в клиническую практику внедряются все новые лекарственные средства и биологические препараты для терапии состояний, связанных с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС, надёжных и универсальных средств лечения не появилось. Данная ситуация может быть связана с тем, что патогенез хронизации нейродегенеративного процесса, являющегося определяющим моментом для течения и исходов перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС, во многом остается неизвестным. Ряд исследователей полагает, что вслед за первичным повреждением нервной ткани имеет место включение в патологический процесс аутоиммунных механизмов [1,2,3,4,6,13], что сопровождается нарушением резистентности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). В рамках данных представлений в качестве маркеров патологических процессов и травм головного мозга могут рассматриваться нейроспецифические белки (НСБ) [3,13,14,30]. Одними из наиболее изученных среди НСБ являются глиофибрилярный кислый протеин (gliofibrillary acid protein – GFAP), структурный белок промежуточных филаментов астроцитов, и нейроспецифическая енолаза (neuron-specific enolase – NSE) – гликолитический цитоплазматический фермент нейронов, катализирующий превращение 2-фосфоглицерата в 2-фосфоенолпируват [3,30,48].

В большинстве зарубежных исследований оценивалось состояние ГЭБ для НСБ только в течение нескольких первых суток жизни [20,32]. В меньшем количестве научных исследований была изучена динамика проницаемости ГЭБ при гипоксически-ишемическом поражении ЦНС одновременно для нескольких НСБ, и/или в отдаленном периоде патологического процесса (через 1 месяц и более после гипоксически-ишемического поражения ЦНС). Это позволило охарактеризовать динамику дегенеративного процесса, а также детали патологических изменений и в глиальном, и в нейрональном компонентах ткани мозга [3,12,14]. В качестве субстрата для оценки концентрации НСБ может служить не только сыворотка крови, но и другие биологические жидкости, например, спинномозговая жидкость [19,32]. Однако клинические данные изменения содержания НСБ при гипоксически-ишемическом поражении ЦНС в ликворе оценивались преимущественно в первые несколько суток жизни. Кроме того, нет клинических данных о результатах сопоставления содержания НСБ в ликворе с уровнем НСБ в сыворотке крови. Это связано с техническими и этическими проблемами получения биологических материалов: с этих точек зрения невозможно брать образцы крови и спинномозговой жидкости у детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС для выполнения анализа содержания НСБ с достаточной периодичностью (когда это не обусловлено необходимостью). Также применение интенсивной медикаментозной терапии затрудняет интерпретацию полученных результатов. В условиях эксперимента, где перечисленные факторы минимизированы, были получены интересные данные о динамике концентрации ряда НСБ в сыворотке крови и спинномозговой жидкости в течение длительного периода после перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС [3,13,14].

Между тем, анализ различных маркеров ГЭБ (НСБ), отражающих как состояние ГЭБ, так и степень ишемического повреждения нейронов, бесспорно, имеет важное значение для понимания патогенеза, в частности – выяснения роли нарушения проницаемости ГЭБ для НСБ в хронизации нейродегенеративного процесса после перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС.

Особенности течения и исходы перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС.

Гипоксически-ишемическое повреждение головного мозга занимает первое место в структуре перинатальных повреждений ЦНС. Так, большинство неблагоприятных факторов во время беременности и родов в конечном итоге приводят к тканевой гипоксии [18,28,40,59,61]. Под термином «перинатальная гипоксия» в неонатологии понимается симптомокомплекс, обусловленный кислородной недостаточностью плода и новорожденного. Различают внутриутробную гипоксию (гипоксия плода) и постнатальную гипоксию

(гипоксия новорожденного). Гипоксия новорожденного всегда вторична по отношению к какой-либо иной патологии. Гипоксия плода может быть антенатальной, т.е. иметь место до начала родовой деятельности, и интранатальной – при возникновении кислородной недостаточности во время родового акта [49,59,61]. Сочетанное воздействие гипоксии внутриутробно и в раннем неонатальном периоде рассматривают как перинатальное гипоксически-ишемическое поражение [7,8,11,18,36,38,59].

Фазы восстановления после перинатальной ишемии.

Фазы восстановления мозга после перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС нейрофизиологически характеризуются изменением кровоснабжения мозга, паттерна ЭЭГ и кортикального импеданса [49]. Различают фазу реперфузии ($\pm 0-4$ часа), латентную фазу (0-8 часов), фазу вторичных энергетических расстройств (8-72 часа) и позднюю фазу (>72 часов). В фазу реперфузии происходит восстановление снабжения ишемизированного мозга кислородом. Основные патологические процессы (продукция тканями вновь снабжающимися кислородом, свободных радикалов, адгезия нейтрофилов на эндотелии сосудов при реперфузии) происходят в микрососудистом русле, что приводит к феномену отсроченной постишемической гипоперфузии [3,13,49]. Реперфузия вследствие повышения тонуса артериальных сосудов может привести к вторичному повреждению мозга [34,52,53]. Сразу после реперфузии в регионах мозга, не поврежденных ишемией, развивается цитотоксический отек. Он четко визуализируется на диффузно-взвешенной МРТ [37,38].

Латентная фаза клинически характеризуется некоторым уменьшением раннего цитотоксического отека. После транзиторной гиперемии скорость кровотока в мозге часто ниже нормы. Хотя ЭЭГ-активность подавлена, во время этой фазы она начинает восстанавливаться [2,3,49].

Фаза вторичных энергетических расстройств, или отсроченная (вторичная) фаза повреждения, наблюдается через 8-48 часов после начала реперфузии [3,13,14,51]. По мнению ряда авторов, тяжесть энергетических расстройств у новорожденных детей в эту фазу коррелирует с нервным развитием в возрасте до 1 года. В эту фазу накапливаются эксайтотоксины, повышается продукция NO_2 , падает электрическая активность мозга, появляются и достигают пика (обычно на 28 часе после поражения) судороги [3,13,14,57].

Фазы развития патологического процесса в постгипоксический период.

Клиника перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС и врачебная тактика в восстановительном периоде детально описаны в работах отечественных и зарубежных авторов [26,31,55,56,

59,60]. В частности, выделяются четыре фазы развития патологического процесса. Первая фаза – острый период болезни, продолжительностью до 1 мес. жизни, непосредственно связанный с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС. Вторая фаза патологического процесса распространяется на 2-3 месяца жизни. Для нее характерно снижение нейрональных потерь и уменьшение выраженность неврологических расстройств. Улучшается общее состояние, повышается двигательная активность, происходит нормализация мышечного тонуса, сухожильных и физиологических рефлексов, характер ЭЭГ. Это феномен объясняется тем, что пострадавший мозг не утрачивает способности к восстановлению. Однако продолжительность этой фазы невелика и вскоре, к 3-му месяцу жизни, наступает нарастание спастических явлений. Фаза «неоправданных надежд» на полное восстановление завершается. С полным основанием она может быть названа фазой ложной нормализации. Третья фаза – фаза спастических явлений – (3-6 месяцы жизни) характеризуется преобладанием мышечной гипертонии. В то же время, у ряда детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС наметившийся во второй фазе прогресс закрепляется, что обнаруживается в виде снижения неврологических расстройств. Финальная, четвертая фаза, не имеет выраженных временных границ и предполагает исход патологического процесса в виде развития детского церебрального паралича (ДЦП), синдрома минимальных мозговых дисфункций (ММД), астеноневротического синдрома, гидроцефального синдрома, синдром двигательных нарушений, эпилептического синдрома, задержки психомоторного и предречевого развития (ЗППР) и прочих заболеваний, или же может произойти восстановление функций в случае благоприятного исхода [5,8,21].

Структурно-морфологические изменения в ЦНС в постгипоксический период.

Острая ишемия ЦНС запускает комплекс патобиохимических реакций во всех основных клеточных пулах нервной ткани и вызывает нейрональные нарушения, астроцитоз, микроглиальную активацию, а также сочетанные с ними изменения нейтрофилов, макрофагов и эндотелиальных клеток. Начальные изменения нейронов могут наблюдаться уже в течение 30 мин. после начала ишемии. Через 1 час в нейронах визуализируется группировка гетерохроматина, расширение эндоплазматического ретикулума, вакуолизация, набухание внутреннего митохондриального матрикса [18,41,49]. Эти изменения в течение 6 часов могут быть потенциально обратимы. Спустя 10-12 часов ишемии в ядерной зоне обычно обнаруживают признаки необратимого клеточного повреждения в виде разрушения цитоплазматических и ядерных мембран, отложения богатых кальцием солей во внутренней митохондриальной мембране [3,13]. Первые «клетки-тени» (умершие нейроны) находят в ткани мозга на 2-3 сутки после

ишемии [41]. Изменения астроцитов в виде набухания, фрагментации отростков и дезинтеграции наблюдаются с первых минут ишемии. Они, как правило, предшествуют нейрональным изменениям. Также изменения астроцитов сопровождаются снижением экспрессии астроцитарного маркера – GFAP [3,13,14]. Однако через 4-6 часов после развития ишемии отмечается активный синтез GFAP астроцитами, окружающими ишемическую зону, [3,14,35]. Примерно через 24 часа вокруг зоны ишемии образуется сеть GFAP-позитивных астроцитов. Астроцитарная реакция становится все более и более выраженной и ведет к формированию глиальных рубцов в конце 1-й – начале 2 нед. после ишемии [25]. Микроглиальные клетки в нормальных условиях имеют ветвистую форму с множеством отростков. Они могут быть кратковременно активированы до увеличения продукции ряда провоспалительных медиаторов, но затем быстро возвращаются в состояние покоя [35,50]. В патологических условиях, в т.ч. при ишемии, они втягивают отростки и принимают амебодную форму, чему соответствует их выраженная функциональная активация, вплоть до готовности к фагоцитозу [35]. В этих условиях они не возвращаются к состоянию покоя, а продолжают синтезировать большой спектр токсичных для ткани соединений и таким образом поддерживать воспалительные реакции. Это ведет к отсроченным нейрональным потерям, микроциркуляторным нарушениям, нарушению проницаемости ГЭБ [40,43].

В микроциркуляторном русле реактивные изменения нейтрофилов верифицируются уже через 6-8 часов после развития ишемии. Указанные изменения вызваны активацией микроглии и резким повышением синтеза провоспалительных факторов и молекул клеточной адгезии. Характерными признаками являются адгезия нейтрофилов к эндотелию мелких сосудов, проникновение их через ГЭБ и инфильтрация ишемизированной ткани мозга [25,62]. Динамика реакции нейтрофилов варьирует сообразно особенностям ишемического процесса: макрофаги из кровяного русла начинают проникать в ишемизированную нервную ткань в конце 1-х суток после ишемии, однако этот процесс становится максимально выраженным только на 5-7 сутки. Изменения состояния клеток эндотелия микроциркуляторного русла выявляются с первых же минут ишемии. Примерно через 30 мин. после начала ишемии наблюдается их набухание, через 1 час – повышенная проницаемость мембран, а через 6 часов наблюдаются признаки некроза отдельных клеток. Ко 2-3 дню происходит пролиферация как эндотелиальных, как и гладкомышечных клеток сосудистой стенки [39]. В то же время церебральная ишемия активирует процессы ангиогенеза и неоваскуляризации. Эти процессы принято считать благоприятным признаком, который позволяет прогнозировать положительную динамику восстановления.

Несмотря на очевидную связь между острой ишемией мозга и некрозом, апоптоз (генетически-

детерминированный механизм запрограммированной гибели клеток) также является частью патогенеза. Механизмы апоптоза, позволяющие клеткам погибать без признаков выраженного воспаления и высвобождения генетического материала, включаются позже быстрых реакций некротических каскадов: они берут начало спустя 1-2 часа после начала ишемии, начинают проявлять себя в полной мере через 12 часов, и достигают максимума активности на 2-3 сутки [39,41].

Таким образом апоптоз, наряду с другими отдаленными последствиями ишемии, принимает участие в "доформировывании" очагов повреждения. При тяжелых гипоксически-ишемических поражениях ЦНС развивается некроз клеток, но при ишемии меньшей степени гибель клеток может развиваться преимущественно по типу апоптоза [3,13]. В условиях эксперимента было показано, что плотность измененных клеток повышается, начиная с 12 часов и до 7-го дня после перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС в коре и базальных ганглиях. При этом в стриатуме и коре некротические клетки могут наблюдаться и ранее, чем через 3 часа после повреждения. Однако они встречаются и в течение вторичного повреждения спустя 24-48 часов в коре и до 6 дней – в базальных ганглиях. Нейродегенерация в коре обычно представляет собой идущие параллельно процессы некроза и апоптоза [3,14,41]. По данным M. Chopr и Y. Li с соавт. [22,23], спустя 2 часа после повреждения и через 24 часа после реперфузии в ишемизированном стриатуме верифицируются подвергшиеся апоптозу клетки, среди которых 90-95% нейронов, 5-10% астроцитов, и не более 1% эндотелиальных клеток. При этом количество клеток в состоянии апоптоза максимально увеличивается через 24-48 часов после ишемии. Впоследствии количество клеток в состоянии апоптоза имеет тенденцию к снижению, однако, остается достоверно еще около 4 недель. То, что апоптоз приводит к отсроченной гибели нервных клеток, свидетельствует о том, что мероприятия, проводимые даже недели спустя от эпизода перенесенной ишемии, могут оказаться полезны [41].

Характерными структурными изменениями при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении ЦНС являются перивентрикулярная лейкомаляция (ПВЛ) и внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) [7,11,58,59]. ПВЛ представляет собой коагуляционный некроз белого вещества, расположенного вокруг боковых желудочков мозга. Поражение может быть фокальным, с эволюцией во множественные экhoneгативные полости, и реже – диффузным, с формированием псевдокист [7,58]. Основным повреждением при ВЖК является кровоизлияние в субэпендимальный герминативный матрикс, наиболее выраженный на 26-32 неделе гестации и инволюционирующий к 38-40 неделе (область плюрипотентных клеток-предшественников нейронов и глиальных клеток, расположенная вентролатерально по отношению к боковому желудочку). Разрыв стенок сосудов герминативного

матрикса и развитие ВЖК является следствием сочетанного воздействия таких сосудистых, интра- и экстраваскулярных факторов, как увеличенная скорость мозгового кровотока при реперфузии, системная гипертензия, нарушение свертывания крови, отсутствие поддерживающей стромы вокруг сосудов, повышение фибринолитической активности [7,59,61].

Таким образом, перинатальное гипоксически-ишемическое поражение ЦНС – это процесс, который не ограничивается первыми месяцами жизни: перенесшие его дети в дальнейшем могут иметь заметные неврологические нарушения и структурные изменения в ЦНС, выявляемые методами нейровизуализации. Считается, что определенную роль при этом может играть развитие аутоиммунных процессов вследствие элиминации НСБ в системный кровоток и спинномозговую жидкость. В свою очередь, выход нейроспецифических антигенов из ткани мозга в кровь обусловлен нарушением проницаемости ГЭБ для крупномолекулярных соединений, к каковым относятся белки.

Содержание NSE и GFAP в биологических жидкостях как критерий оценки проницаемости ГЭБ при гипоксически-ишемическом поражении ЦНС.

НСБ в биологических жидкостях в норме не обнаруживаются и попадают в системный кровоток лишь при нарушении проницаемости ГЭБ. Определение содержания НСБ в сыворотке крови и спинномозговой жидкости сегодня признано одним из наиболее перспективных методов изучения проницаемости ГЭБ в [1,2,3,13,16]. Иммунохимическое изучение антигенного состава ткани мозга позволило описать свыше 120 различных НСБ. Среди них наиболее изученными и адекватно характеризующими собственно мембранные функции ГЭБ сегодня являются NSE и GFAP [30,48].

NSE и GFAP – тканеспецифические и видонеспецифические маркеры нейронов и астроцитов.

По своим физико-химическим свойствам NSE представляет собой одноцепочечный протеин с молекулярной массой $50 \pm 4,5$ kD с электрофоретической подвижностью в области $\alpha 2$ -глобулинов [1]. Биологическая роль этого белка в клетках не совсем ясна, хотя упрочняется точка зрения о существовании в нейронах своего собственного специфического гликолитического пути [13].

При исследовании уровня NSE в различных отделах мозга мыши в онтогенетическом периоде с 1-го дня жизни по 30 месяц было выявлено его измеряемое количество с первого дня постнатального периода в переднем мозге, стволе и мозжечке. Начиная с 14-го дня, уровень NSE быстро нарастал во всех отделах, за исключением переднего мозга, где активность его синтеза немного запаздывала по отношению к другим отделам мозга. В последующем концентрация NSE незначительно линейно увеличивалась практически до

6 месячного возраста, а в период между 6-30 месяцами уровень NSE стабилизировался в мозжечке, гипоталамусе, гиппокампе; наблюдалась тенденция к снижению уровня NSE в подкорковых узлах и коре. В работах M.Cimino с соавт. на основании различной способности синтезировать NSE в различные периоды жизни организма было выделено 3 класса нейронов. Практически все исследователи отмечают резкое увеличение биосинтеза этого белка начиная со второй недели жизни животного, что соответствует усиленной дифференцировке нейронов в коре и подкорковых структурах [10]. Эти данные, выполненные на высоком методическом уровне, позволяют рассматривать NSE в качестве относительно высокоспецифического маркера нейронов и проницаемости ГЭБ.

GFAP является мономерной субъединицей глиальных филаментов (нейрофиламентов) дифференцированных астроцитов ЦНС [27]. GFAP представляет собой белок с молекулярным весом, по различным данным, от 40,5 до 54 kD, с изоэлектрической точкой 5,48 – 6,28 [47]. Содержание GFAP в эмбриональном мозге человека резко возрастает на поздних сроках развития плода, хотя экспрессия данного белка в мозге эмбриона выявлена уже на 7-8 неделе беременности (в количестве менее 0,05% по сравнению с мозгом взрослого человека). Иммуногистологически GFAP в этот период времени выявляется в клетках радиальной глии. Помимо астроглии ЦНС, GFAP обнаруживается в большинстве типов периферической глии [17,45]. Таким образом, GFAP может считаться маркером глиальных клеток.

Клинико-диагностическое значение исследования NSE и GFAP при гипоксически-ишемическом поражении ЦНС.

Анализу нейробиохимических маркеров повреждения мозга в оценке проницаемости ГЭБ при различных поражениях нервной системы в последнее время уделяется пристальное внимание. Так, в клинической практике проводится все больше исследований NSE и GFAP в биологических жидкостях. Оба белка расцениваются как маркеры повреждения мозга при инсульте, остановке сердца, травматических повреждениях, после хирургических вмешательств, требующего искусственного кровообращения, в нейроонкологии, и т.п.

Хотя исследований корреляции между тяжестью поражения ЦНС и концентрациями НСБ в биологических жидкостях у взрослых пациентов стало проводиться все больше [44], количество научных работ по определению уровня НСБ у новорожденных с перинатальными гипоксически-ишемическими поражениями ЦНС и другой патологией продолжает оставаться ограниченным [3,12,32]. Nagduman с соавт. [46] провел сравнительный анализ нескольких нейроспецифических антигенов, в том числе и NSE, в сыворотке крови у детей с тяжелой перинатальной асфиксией, взятой через 2, 6, 12, и 24 после рождения. Статисти-

чески значимые различия в содержании NSE по сравнению с контрольной группой наблюдались в пробах, взятых через 12 и 24 часа, в то время как на 6 и 12 часах после рождения различий еще не было. Результаты других исследователей соответствуют этим данным [32,54]. Berger с соавт. в своем исследовании проводили анализ концентрации NSE в спинномозговой жидкости детей с травматическим повреждением мозга [19]. Авторы отмечают значительное повышение уровня NSE в СМЖ на первый день после травмы. Также был зарегистрирован новый пик концентрации NSE на 63-м часе после травмы, который Berger с соавт. объясняют отсроченной смертью нейронов. Похожие данные были получены и в других клинических исследованиях с использованием экспериментальных моделей повреждения ЦНС [24,52].

A. Elimian [29] с соавт. исследовали уровень NSE в амниотической жидкости, взятой у беременных женщин на 24-32 неделях гестации. Исследователи подтвердили, что содержание NSE в ней может использоваться в качестве маркера повреждения нейронов и коррелирует с развитием таких расстройств, как ВЖК и ПВЛ. При развитии данной патологии средняя концентрация NSE в амниотической жидкости составила 9,5 нг/мл, в то время в группе контроля уровень NSE был 2,0 нг/мл. Авторы сделали вывод, что при повышении уровня NSE выше 6,0 нг/мл риск развития ВЖК и ПВЛ возрастает до 89%.

A. Garcia-Alix [32] с соавт. выявили прямую взаимосвязь концентрации NSE в спинномозговой жидкости у доношенных новорожденных с асфиксией в родах через 12 и 72 часа после рождения и моторных расстройств в возрасте до 1 года. По их данным, уровень NSE на этих сроках прямо коррелирует как с размером повреждения ЦНС, так и с моторными расстройствами в течение 1-го года жизни.

Количество публикаций, посвященных определению уровня GFAP у новорожденных с различной патологией, значительно меньше. Blenpow с соавт. опубликовали серию статей, посвященных содержанию GFAP в спинномозговой жидкости у новорожденных с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС [20]. Исследователи наблюдали повышение уровня GFAP в СМЖ в первые 24-48 часов после перинатальной асфиксии. Профиль высвобождения при этом был подобен профилю высвобождения GFAP при фокальной ишемии у взрослых. Авторы заключили, что повышение GFAP выше «критического» уровня 659 нг/мл указывает на неблагоприятный прогноз. При сравнительном анализе уровней NSE и GFAP у 22-х доношенных новорожденных с перинатальной асфиксией в пробах СМЖ, взятых на 2-3 дне после рождения наблюдалось значительное (в сравнении с группой контроля) повышение уровня обоих НСБ: для NSE значения составили 10,9 (4,6-460) нг/мл в группе с перинатальной асфиксией и 5,8 (3,0-8,2) нг/мл в контрольной группе, для GFAP – 1428 (427-49706) нг/мл

и 538 (458-1051) нг/мл, соответственно. Авторами отмечено, что у новорожденных с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС уровень NSE и GFAP в СМЖ выше, чем уровень этих же протеинов у взрослых с инсультом. Это может быть объяснено тем, что у новорожденных патологический процесс носит глобальным, а не фокальный характер.

Таким образом, возможности использования НСБ (в частности, GFAP и NSE) в качестве маркеров состояния ГЭБ широко используются в современных клинических исследованиях различных заболеваний и патологических состояний, в том числе и в изучении гипоксически-ишемических поражений ЦНС. Однако, в большинстве исследований изучаются только аспекты острого периода развития нарушения мозгового кровообращения и сопутствующей ему гипоксии и ишемии нервной ткани. Вместе с тем, в относительно отдаленном периоде патологического процесса функциональное состояние ГЭБ изучено недостаточно, не до конца изученными остаются причины, приводящие к хроническому течению нейродегенеративного процесса, являющегося определяющим моментом для течения и исходов гипоксически-ишемического поражения ЦНС. Очевидно, что при долговременных клинических исследованиях возникают ограничения, обусловленные частотой взятия проб крови и ликвора у детей. Поэтому важной задачей представляется исследование данной патологии на адекватных экспериментальных моделях [3]. Кроме этого, обычно исследования ограничиваются сроками в 5-10 суток с момента гипоксически-ишемического повреждения. Данные о динамике высвобождения НСБ в течение более длительного периода весьма немногочисленны [3,12,13,14]. Также лишь небольшая часть исследователей проводит анализ содержания нескольких нейроспецифических белков [2,14]. Но, по мнению ряда исследователей, точно оценить тяжесть процесса и спрогнозировать исход путем анализа одного антигена не представляется возможным, т.к. перинатальное гипоксически-ишемическое поражение ЦНС – это комплексный процесс, который затрагивает все клеточные структуры мозга, и методически обоснованно делать выводы на основе сопоставления показателей содержания в крови как нейрональных, так и глиальных нейробиохимических маркеров [2,3,13,14].

Такие исследования были предприняты в прошлом десятилетии. Был выполнен количественный иммунохимический анализ NSE и GFAP как критериев проницаемости ГЭБ в динамике гипоксически-ишемического перинатального поражения головного мозга в клинике и эксперименте. Иммунохимический мониторинг NSE и GFAP в сыворотке крови детей с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС различной степени тяжести в течение 24 недель постнатального развития выявил феномен устойчивого (в течение 6 месяцев, т.е. до конца исследования) и достоверного повыше-

ния в сыворотке крови уровня обоих НСБ с наличием двух пиков – на 1-й неделе и в конце первого месяца жизни. Также было установлено, что концентрации NSE в образцах сыворотки крови детей с внутрижелудочковыми кровоизлияниями (ВЖК) существенно (в 3-8 раз) превышают таковые у детей с перивентрикулярной лейкомаляцией (ПВЛ), что может быть использовано при оценке особенностей патологических изменений в ткани мозга при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении ЦНС. В ходе работы была подтверждена связь концентраций NSE и GFAP в сыворотке крови и ликворе с тяжестью поражения ЦНС, а также с процессами нейродегенерации после перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС. Таким образом, доказано, что динамический иммуноферментный анализ GFAP и NSE может быть рекомендован для объективной оценки резистентности ГЭБ в постнатальном периоде у детей, перенесших перинатальное гипоксически-ишемическое поражение ЦНС. Увеличение концентрации данных НСБ в сыворотке крови свидетельствует о повышении проницаемости ГЭБ гипоксически-ишемического генеза [2,3,12,14].

Вполне закономерна обратная зависимость уровня содержания NSE и GFAP в сыворотке крови от тяжести состояния после перенесенной перинатальной ишемии, характеризуемой при помощи шкалы Апгар. У детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС с наиболее низкой оценкой по шкале Апгар уровень NSE и GFAP остается наиболее высоким. При этом на 1-й неделе после ишемии уровень NSE у детей с оценкой по шкале Апгар 1-6 баллов существенно превосходит таковой у детей с оценкой по шкале Апгар 7-9 баллов. Вместе с тем, уровень GFAP в обеих группах существенно не различался, поэтому авторы делают вывод, что повышение содержания NSE может свидетельствовать в пользу наличия процессов массивной очаговой некротической нейродегенерации, преобладающих в течение первых 5-7 суток после тяжелой ишемии.

Согласно классификации перинатальных поражений нервной системы у новорожденных [11], следствием перенесенной в перинатальном периоде ишемии могут являться ВЖК и ПВЛ, верифицируемые при нейросонографии. В ходе исследований показано, что у детей с ВЖК концентрация обоих НСБ в сыворотке крови выше, чем при ПВЛ. Возможно, что при геморрагической деструкции ткани мозга повреждение и гибель клеток в очаге кровоизлияния происходит значительно раньше и носит необратимый характер в отличие от ишемического инсульта, где деструктивные процессы развиваются гораздо медленнее, и при восстановлении кровотока часть клеток продолжает оставаться жизнеспособной. Кроме того, развитие интракраниальных кровоизлияний происходит, как правило, вследствие выраженной гиперперфузии церебральных сосудов на фоне срыва ауторегуляции мозгового кровотока [61], что также

способствует высвобождению НСБ в системный кровоток. Отсроченное повышение концентрации после перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС (NSE – на 4-й неделе, а GFAP – на 3-й неделе) может указывать на возможное вторичное повреждение клеточных структур мозга и нарушение проницаемости ГЭБ, обусловленное включением аутоиммунных механизмов [2,3,14].

Заключение

Приведенные в обзоре данные клинических и экспериментальных исследований доказывают, что иммуноферментный анализ НСБ в системном кровотоке позволяет выявить нарушение проницаемости ГЭБ и хронически протекающий процесс нейродегенерации у детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС, а также прогнозировать его тяжесть и исход. Также это дает основания связать

хронизацию нейродегенеративных процессов в мембранах нейронов и астроцитов при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении ЦНС с выходом НСБ в системный кровоток, что может сопровождаться образованием антител к ним и последующим развитием аутоиммунных процессов в ЦНС. Повторные повышения концентраций NSE и GFAP, по-видимому, обусловлены особенностями аутосенсibilизации организма и аутоиммунным повреждением нервных клеток, в том числе астроцитов, формирующих ГЭБ. Проведение исследования концентрации НСБ в сыворотке крови может быть целесообразным для оценки резистентности ГЭБ, определения степени тяжести поражения ЦНС и прогноза течения заболевания у детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС, что может найти применение при разработке новых подходов к профилактике, терапии и реабилитации.

Литература:

1. Антонова О.М. Нейроспецифическая енoлаза и ее роль в механизмах антительной агрессии в мозг. Дисс. к.м.н., 1997; 121 с.
2. Блинов Д.В. Общность ряда нейробиологических процессов при расстройствах деятельности ЦНС. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2011; 2: 28-33
3. Блинов Д.В. Иммуноферментный анализ нейроспецифических антигенов в оценке проницаемости гематоэнцефалического барьера при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении ЦНС (клинико-экспериментальное исследование). Дисс. к.м.н. Москва. 2004; 153 с.
4. Блинов Д.В., Сандуковская С.И. Статистико-эпидемиологическое исследование заболеваемости неврологического профиля на примере детского стационара. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2010; 2(4): 12-22.
5. Бредбери М. Концепция гематоэнцефалического барьера. Москва. 1983; 480 с.
6. Ганнушкина И.В. Патопфизиология нарушений мозгового кровообращения. Кн. Мозг: теоретические и клинические аспекты (под ред. Покровского В.И.). Медицина. 2003; с. 463-489.
7. Дегтярева М.Г. Динамический контроль функционального состояния ЦНС у детей с перинатальными постгипоксическими поражениями головного мозга на первом году жизни. Дисс. к.м.н. 2002; 254 с.
8. Журба Л.Т., Мастоюкова Е.М. Нарушение психомоторного развития детей первого года жизни. Медицина. 1981; 272 с.
9. Казьмин А.М., Дайхина Л.В., Озерова О.Е. Состояние нервной системы в первые 12-16 месяцев у детей, перенесших перивентрикулярную лейкомаляцию в периоде новорожденности. Ж. материнство и детство. 1992; № 37 (4-5): с. 8 – 13.
10. Каушанская Е.Я. Значение нейроспецифических белков и протеолитических ферментов в оценке тяжести критического состояния мозга новорожденных и их невропсихического развития в раннем возрасте. Автореф., дисс. к.м.н. 1993; 22 с.
11. Классификация перинатальных поражений нервной системы у новорожденных. Методические рекомендации. ВУНМЦ МЗ РФ. 2000; 40 с.
12. Мухтарова С.Н. Значение определения нейроспецифической енoлазы в оценке тяжести гипоксически-ишемических поражений мозга у новорожденных. Медицинские Новости Грузии. 2010; 4(181): 49-54
13. Чехонин В.П., Дмитриева Т.Б., Жирков Ю.А. Иммунохимический анализ нейроспецифических антигенов. Москва. 2000; 416 с.
14. Чехонин В.П., Лебедев С.В., Блинов Д.В., Гурина О.И., Семенова А.В., Лазаренко И.П., Петров С.В., Рябухин И.А., Рогаткин С.О., Володин Н.Н. Патогенетическая роль нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера для нейроспецифических белков при перинатальных гипоксически-ишемических поражениях ЦНС. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2004; т.3 № 2: с. 50-56.
15. Якунин Ю.А., Перминов В.С. Прогностические критерии гипоксических поражений ЦНС у детей. Рос. Вест. перинат. и пед. 1993; 38(2): 20-24.
16. Ahlsen G., Rosengren L., Belfrage M. Glial fibrillary acidic protein in the cerebrospinal fluid of children with autism and other neuropsychiatric disorders. Biol. Psychiatry. 1993; 15 – 33(10): 734-743.
17. Barber P.S., Lindsay M. Schwann cell of the olfactory nerves contain GFAP and resemble astrocytes/ Neurosci. 1982; 7(12): 3077-3090.
18. Berger R., Garnier Y., Pathophysiology of perinatal brain damage. Brain. Res. Rew. 1999; 30: 107-134.
19. Berger R., Pierce M., Wisniewski S., Adelson P., Clark R., Ruppel R., Kochanek P. Neuron-specific enolase and s100B in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury in infants and children. Pediatrics. 2002; 109(2): 34-38.
20. Blennow M., Savman K., Ilves P., Thoresen M., Rosengren L. Brain-specific proteins in the cerebrospinal fluid of severely asphyxiated newborn infants. Acta Paediatr. 2001; 90: 1171-1175.
21. Brown J.K., Minns R.A. Non-accidental head injury, with particular reference to whiplash shaking injury and medico-legal aspects. Dev. Med. Child. Neurol. 1993; 35(10): 849-69.
22. Chopp M., Li Y. Apoptosis in focal cerebral ischemia. Acta Neurochir. 1996; 66: 21-26.
23. Chopp M., Chan P.H., Hsu C.Y., Cheung M.E., Jacobs T.P. DNA damage and repair in central nervous system injury: National Institute of Neurological Disorders and Stroke Workshop Summary. Stroke. 1996; 27 (3): 363-369
24. Clark R., Kochalek P., Adelson P. Increases in bcl-2 protein in cerebrospinal fluid and evidence for programmed cell death in infants and children after severe traumatic brain injury. J. Pediatr. 2000; 137: 197-204
25. Clark R.K., Lee E.V., Fish C.J., White R.F., Price W.J., Jonak Z.L., Feuerstein G.Z., Barone F.C. Development of tissue damage, inflammation and resolution following stroke: an immunohistochemical and quantitative planimetric study. Brain Research Bull. 1993; 31: 565-572
26. Dennery P.A. Predicting neonatal brain injury: are we there yet? Arch. Pediatr. Adolesc. Med. 2003; 157(12): 1151-1152.
27. Delpech B., Delpech A., Vidard M. Glial fibrillary acidic protein in tumors of the nervous system. Br. J. Cancer. 1978; 37: 33-38.
28. Du Plessis A.J., Volpe J.J. Perinatal brain injury in the preterm and term newborn. Curr. Opin. Neurol. 2002; 15(2): 151-157.
29. Elimian A., Figueroa R., Verma U., Visintainer P., Sehgal P, Tejani N. Amniotic fluid neuron-specific enolase: a role in predicting neonatal

- neurologic injury? *Obst. Gynecol.* 1998; 92 (1): 546-55.
30. Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem. Res.* 2000; 9-10: 1439-1451.
 31. Fazzi E., Lanners J., Danova S., Ferrarri-Ginevra O., Gheza C., Luparia A., Balottin U., Lanzi G. Stereotyped behaviours in blind children. *Brain Dev.* 1999; 21(8): 522-528.
 32. Garcia-Alix A., Cabanas F., Pellicer A., Hernanz A., Stiris T.A., Quero J. Neuron-specific enolase and myelin basic protein: relationship of cerebrospinal fluid concentrations to the neurologic condition of asphyxiated full-term infants. *Pediatrics.* 1994; 93: 234-240
 33. Greishen G., Ischaemia of the preterm brain. *Biol. Neonate.* 1992; 62: 243-247.
 34. Groggaard B., Schurer L., Gerdin B., Arfors K.-E. (). The role of polymorphonuclear leukocytes in postischemic delayed hyperperfusion. In *Oxygen Free Radicals in Shock*, ed. U. Novelli, Karger, Basel, Florence. 1985; 74-78.
 35. Giulian D., Reactive microglia and ischemic injury. In: *Primer on cerebrovascular diseases* (Welsh M., Caplan L., Siesjo B., Weir B., Reis D., eds.). San Diego, CA, Academic. 1997; 117-124.
 36. Haataja L., Mercuri E., Regev R., Cowan F., Rutherford M., Dubowitz V., Dubowitz L. Optimality score for the neurologic examination of the infant at 12 and 18 months of age. *J. Pediatr.* 1999; 135(2 Pt 1): 153-161.
 37. Hunt R.W., Loughnan P., Fink A.M., Volpe J.J., Inder T.E. Magnetic resonance demonstration in the newborn of generalized cerebral venous dilation with spontaneous resolution. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 2002; 6(5): 289-92.
 38. Huppi P.S., Warfield S., Kikinis R., Barnes P.D., Zientara G.P., Jolesz F.A., Tsuji M.K., Volpe J.J. Quantitative magnetic resonance imaging of brain development in premature and mature newborns. *Ann. Neurol.* 1998; 43(2): 224-35.
 39. Iadecola C. Mechanisms of cerebral ischemic damage. In: *Cerebral ischemia* (W. Watz ed.). New Jersey, Totowa, Humana Press. 1999; 3-33.
 40. Inder T.E., Volpe J.J. Mechanisms of perinatal brain injury. *Semin. Neonatol.* 2000; 5(1): 3-16.
 41. Kermer P., Klockner N., Bahr M. Neuronal death after brain injury (models, mechanisms, and therapeutic strategies in vivo). *Cell Tissue Res.* 1999; 298: 383-395.
 42. Levene M., Role of excitatory amino acid antagonists in the management of birth asphyxia. *Biol. Neonate.* 1992; 62: 248-251.
 43. McGeer P.L., Kawamata T., Walker D.G., Akiyama H., Tooyama I., McGeer E.G. Microglia in degenerative neurological disease. *Glia.* 1993; 7: 84-92.
 44. Mokuno K., Kato K., Kavai K., Matsuoka Y., Yanagi T., Sobue I. Neuron-specific enolase and s-100 protein levels in cerebrospinal fluid of patient with various neurological diseases. *J. Neurol. Sci.* 1983; 60: 443-451.
 45. Moller M., Ingild A., Bock E. Immunohistochemical demonstration of S-100 protein and GFA protein in interstitial cells of rat pineal gland. *Brain. Res.* 1978; 140(1): 1-13.
 46. Nagdyman N., K men W., Ko H., Muller C., Obladen M. Early Biochemical Indicators of Hypoxic-Ischemic Encephalopathy after Birth Asphyxia. *Pediatric Research.* 2001; 49(4): 133-139.
 47. Ogawa H., Sato Y., Tackeshita I. Transient expression glial fibrillary acidic protein in developing oligodendrogliaocytes in vitro. *Develop. Brain Res.* 1985; 18(1-2): 133-141.
 48. Oh S.H., Lee J.G., Na S.J., Park J.H., Choi Y.C., Kim W.J. Prediction of early clinical severity and extent of neuronal damage in anterior-circulation infarction using the initial serum neuron-specific enolase level. *Arch. Neurol.* 2003; 60(1): 37-41.
 49. Palmer C. Neurobiology of perinatal asphyxia. *Penn. State Coll. Med.* 2001; 1: 1-18.
 50. Petty M., Wettstein J. Elements of cerebral microvascular ischaemia. *Brain Res. Reviews.* 2001; 36: 23-34.
 51. Roth S.C., Edwards A.D., Cady E.B., Delpy D.T., Wyatt J.S., Azzopardi D. Relation between cerebral oxidative metabolism following birth asphyxia and neurodevelopmental outcome and brain growth at one year. *Dev. Med. Child. Neurol.* 1992; 34: 285-95.
 52. Ruppel R., Kochalek P., Adelson P. Excitotoxicity after severe traumatic brain injury in infants and children: the role of chield abuse. *J. Pediatr.* 2001; 138: 18-25.
 53. Tan S., Parks D.A. Preserving brain function during neonatal asphyxia. *Clinics in Perinatology.* 1999; 26(3): 733-735.
 54. Thomberg E., Thiringer K., Hagberg H., Kjellmer I. Neuron specific enolase in asphyxiated newborns: association with encephalopathy and cerebral function monitor trace. *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal.* 1995; 72: 39-42.
 55. Thompson C.M., Puterman A.S., Linley L.L., Hann F.M., Vanderelst C.W., Moiteno C.D. The value of a scoring system for hypoxic ischaemic encephalopathy in predicting neurodevelopmental outcome. *Acta Paediatr.* 1997; 86(7): 757-761.
 56. Volpe J.J. Brain injury in the premature infant: overview of clinical aspects, neuropathology, and pathogenesis. *Semin. Pediatr. Neurol.* 1998; 5(3): 135-151.
 57. Volpe J.J. Neonatal seizures: current concepts and revised classification. *Pediatrics.* 1989; 84(3): 422-428.
 58. Volpe J.J. Neurobiology of periventricular leukomalacia in the premature infant. *Pediatr. Res.* 2001; 50 (5): 553-562.
 59. Volpe J.J. Neurology of the Newborn. Saunders, Philadelphia. 1995; p. 422.
 60. Volpe J.J. Overview: normal and abnormal human brain development. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 2000; 6(1): 1-5.
 61. Volpe J.J. Perinatal brain injury: from pathogenesis to neuroprotection. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 2001; 7(1): 56-64.
 62. Zhang F., White J., Iadecola C. Nitric oxide donors increase blood flow and reduce brain damage in focal ischemia: evidence that nitric oxide is beneficial in the early stages of cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 1994; 14: 217-226.

OBJECTIVE METHODS FOR DETERMINE THE SEVERITY AND PROGNOSIS OF PERINATAL HYPOXIC-ISCHEMIC CNS

Blinov D.V.

SBEI HPE RNSMU named after N.I. Pirogov

Abstract: perinatal hypoxic-ischemic damage of the CNS is a major cause of mortality and neonatal incapacitating. The severity and prognosis is not always possible to accurately determine by clinical and tools methods of examination. Neurospecific proteins (NSP) could be as markers of pathological processes. One of the most studied among the NSP are gliofibrillary acid protein – GFAP, a structural protein of intermediate filaments of astrocytes, and neuron-specific enolase – NSE, neuronal cytoplasmic glycolytic enzyme that catalyzes the conversion of 2-phosphoglycerate to 2-phosphoenolpyruvate. Investigation of the NSP concentration in the serum could be useful to evaluate the resistance of the BBB, determining the severity of CNS damage and prognosis for a disease in children with perinatal hypoxic-ischemic damages of the CNS.

Key words: NSP, NSE, GFAP, BBB, hypoxia, ischemia.