

УДК 612.086:616-001.83

DOI: 10.22141/2224-0586.6.77.2016.82173

ПОСТЕРНАК Г.И.¹, БОНДАРЕНКО И.В.¹, ПОСТЕРНАК Д.Г.², ЗБАРАЖСКИЙ Ю.В.¹¹ ГУ «Луганский государственный медицинский университет» МЗ Украины,
г. Рубежное, Луганская область, Украина² Луганская областная детская клиническая больница, г. Лисичанск, Луганская область, Украина

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ ФРАГМЕНТИРОВАННОЙ ДНК У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ГИПОКСИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Резюме. В работе исследовали уровень циркулирующей фрагментированной ДНК в крови у новорожденных детей с гипоксическим поражением центральной нервной системы. В зависимости от степени изменений данного показателя определили тяжесть и глубину поражения центральной нервной системы.

Ключевые слова: гипоксия, поражение центральной нервной системы, новорожденные.

Актуальность

Согласно данным МЗ Украины, частота первичной асфиксии новорожденных приближается к 10 %, а у 1 % детей встречается ее тяжелая форма [4]. Гипоксическое поражение центральной нервной системы (ЦНС) вследствие асфиксии является ведущей причиной высокой смертности и инвалидности новорожденных детей [1–3]. Однако в настоящее время отсутствуют объективные диагностические маркеры тяжести, глубины поражения ЦНС и определения возможного прогноза заболевания.

Одним из общепринятых диагностических критериев апоптоза, развивающегося на фоне гипоксического поражения ЦНС, является количество циркулирующей внеклеточной ДНК [5–7]. Данный показатель у новорожденных детей с гипоксическим поражением ЦНС остается малоизученным.

Материалы и методы исследования

Изучен уровень фрагментированной циркулирующей ДНК в крови у 86 новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением головного мозга, гестационный возраст которых составил от 36 до 41 недели. Контрольную группу составили 20 здоровых доношенных детей.

Для определения групп и степени тяжести гипоксического поражения центральной нервной системы мы использовали анамнез заболевания, шкалу Апгар, клинические критерии, классификацию неврологического статуса по Н.П. Шабалову [2], а также инструментальные методы диагностики (нейросонографию).

I группа — 36 доношенных новорожденных детей с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС легкой степени (оценка по шкале Апгар на 1-й минуте не ниже 6 баллов. Неврологический статус: возбуждение и/или угнетение ЦНС не более 5–7 суток);

II группа — 24 ребенка с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС средней и тяжелой степени (оценка по шкале Апгар на 1-й минуте 1–5 баллов. Неврологический статус: возбуждение и/или угнетение ЦНС более 7 суток, кома, декортикация, децеребрация, прогрессирующая внутрочерепная гипертензия, судороги);

III группа — 12 новорожденных с внутрижелудочковым кровоизлиянием (оценка по шкале Апгар на 1-й минуте 1–5 баллов. Неврологический статус: угнетение ЦНС, кома, внутрочерепная гипертензия, судороги, апноэ);

IV группа — 14 новорожденных с сочетанным ишемически-геморрагическим поражением мозга (оценка по шкале Апгар на 1-й минуте 1–5 баллов. Клиническая картина и тяжесть состояния определялись ведущим типом поражения и локализацией).

Этапы исследования новорожденных — первые, третьи и седьмые сутки.

Адрес для переписки с авторами:

Постернак Г.И.

E-mail: redact@i.ua

© Постернак Г.И., Бондаренко И.В., Постернак Д.Г., Збаражский Ю.В., 2016

© «Медицина неотложных состояний», 2016

© Заславский А.Ю., 2016

Для определения циркулирующей фрагментированной ДНК мы использовали метод, основанный на цветной реакции с дифениламиновым реагентом в модификации И.А. Комаревцевой и соавт. (выделение проводится сразу в лизис-буфере pH = 8).

Результаты

У всех новорожденных с гипоксическим поражением центральной нервной системы на всех этапах наблюдения начиная с первых суток регистрировалось увеличение количества циркулирующей фрагментированной ДНК (рис. 1).

Наиболее выраженные изменения отмечались в IV группе новорожденных с сочетанным ишемически-геморрагическим поражением мозга. В 1-е сутки наблюдения исследуемый показатель составлял $79,8 \pm 5,2$ %, что в 4,9 раза превышало данные контрольной группы.

При динамическом наблюдении на 3-й и 7-й день отмечались разнонаправленные изменения изучаемого показателя в зависимости от тяжести гипоксического поражения ЦНС новорожденных (рис. 2).

Уровень циркулирующей фрагментированной ДНК у здоровых новорожденных контрольной группы (рис. 2) снижался на 7-е сутки неонатального периода.

У детей с гипоксическим поражением ЦНС легкой степени (рис. 2) на 3-й день наблюдения отмечался максимальный рост циркулирующей фрагментированной ДНК, который превышал исходный уровень на 8,6 % с тенденцией к снижению и возвращению к первоначальным цифрам. В остальных группах на всех этапах исследования наблюдалось увеличение исходного показателя. Так, максимальный уровень апоптоза, согласно показателям фрагментированной ДНК, во II, III и IV группах наблюдался на 7-м этапе исследования. У новорожденных с перинатальным гипоксическим

поражением ЦНС средней и тяжелой степени разница с исходным уровнем на последнем этапе исследования составляла 17,4 %. У пациентов с внутрижелудочковым кровоизлиянием изучаемый показатель на 7-е сутки по сравнению с исходным уровнем данной группы увеличивался в 1,3 раза. Наиболее выраженные изменения циркулирующей фрагментированной ДНК на 7-й день наблюдения отмечались у детей IV группы. По сравнению со здоровыми новорожденными исследуемый показатель возрастал в 6,9 раза, а с исходным уровнем данной группы — на 15,8 %.

Обсуждение

У новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС легкой степени ухудшение неврологического статуса на 3-и сутки совпадало с увеличением апоптоза. На следующем этапе наблюдения отмечалась положительная динамика, проявляющаяся уменьшением интенсивности апоптоза. Это соответствовало уменьшению уровня циркулирующей фрагментированной ДНК к 7-му дню наблюдения до $30,4 \pm 3,3$ %. По сравнению с исходными данными контрольный показатель был выше на 0,8 %.

У пациентов II группы тяжесть поражения головного мозга клинически проявлялась угнетением сознания вплоть до ступора или комы. Это сопровождалось нерегулярным дыханием, частыми апноэ. В клинической картине наблюдались диффузная гипотония мышц и выраженное снижение сухожильных рефлексов, отсутствие рефлексов новорожденных (сосательного, глотательного, хватательного, Моро), широкие зрачки, которые не реагировали или слабо реагировали на свет. У всех новорожденных детей данной группы отмечались судороги генерализованного характера. Такие дети нуждались в проведении искусственной вентиляции легких. При нейросонографическом исследовании наблюдались диффузное

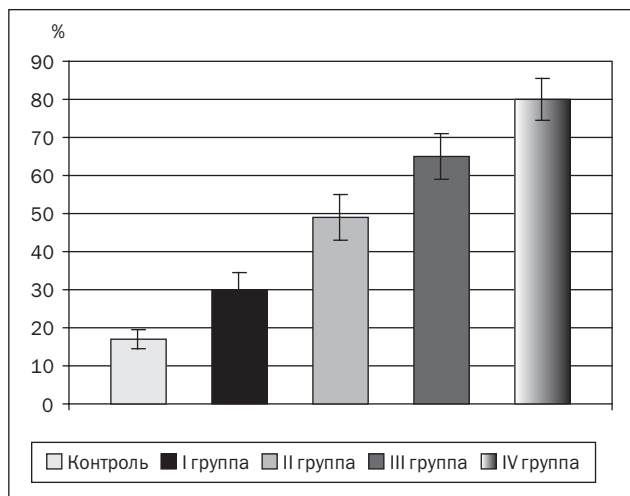


Рисунок 1. Уровень циркулирующей фрагментированной ДНК в 1-е сутки в крови у новорожденных с гипоксическим поражением центральной нервной системы

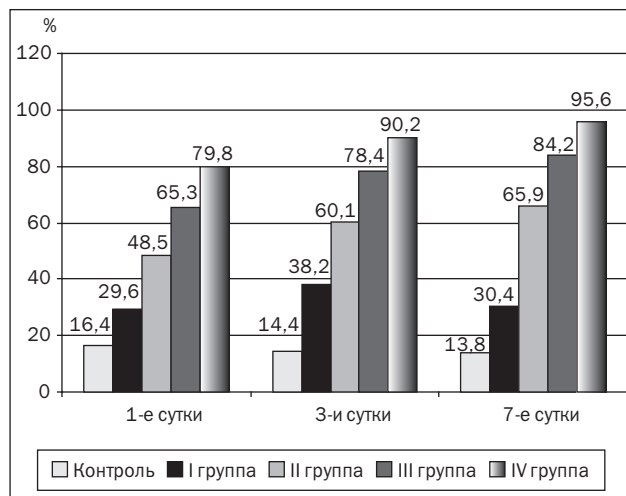


Рисунок 2. Уровень циркулирующей фрагментированной ДНК на 1-е, 3-и и 7-е сутки в крови у новорожденных с гипоксическим поражением центральной нервной системы

повышение экзогенности мозговой паренхимы, сужение боковых желудочков. Также отмечались признаки атрофии больших полушарий головного мозга с пассивным расширением желудочков. В нашем исследовании это проявлялось в постоянном увеличении уровня циркулирующей фрагментированной ДНК на всех этапах наблюдения. К 7-м суткам контрольный показатель возрастал в 4,8 раза по сравнению со здоровыми новорожденными.

У детей с внутрижелудочковым кровоизлиянием тяжесть поражения ЦНС наиболее часто проявлялась угнетением сознания вплоть до комы, судорогами, мышечной атонией, арефлексией, эпизодами апноэ. Также наблюдались бледность кожных покровов и видимых слизистых оболочек, цианоз, метаболический ацидоз. Большой родничок был напряженным и выбухал. Эти новорожденные находились на искусственной вентиляции легких. Нейросонографически выявлялись появление гиперэхогенных зон, венрикуломегалия и деформация бокового желудочка в результате формирования кистозной полости, окклюзионная гидроцефалия. В просвете желудочков часто визуализировались тромбы (эхопозитивные образования). По мере прогрессирования последствий перинатального гипоксического поражения ЦНС уровень апоптоза возрастал. Мы наблюдали увеличение циркулирующей фрагментированной ДНК в кровеносном русле у новорожденных III группы на 3-м этапе исследования на 64 % по сравнению с референтной группой.

Наиболее выраженные неврологические изменения регистрировались в IV группе с сочетанным ишемически-геморрагическим поражением мозга. Клиническая картина зависела от ведущего типа поражения ЦНС (ишемия или кровоизлияние), а также от его тяжести и локализации. Данный вид

повреждений головного мозга наиболее тяжелый, что проявлялось в возрастании уровня циркулирующей фрагментированной ДНК на 3-й день до 90,2 %, а к 7-му этапу исследования изучаемый показатель увеличивался в 6,9 раза по сравнению со здоровыми детьми. Это свидетельствует о том, что самые активные явления апоптоза наблюдались в IV группе новорожденных детей.

Выводы

Уровень циркулирующей фрагментированной ДНК в крови отражает тяжесть поражения ЦНС у новорожденных детей с гипоксическим поражением центральной нервной системы как гипоксически-ишемического, так и гипоксически-геморрагического типа. При уровне циркулирующей фрагментированной ДНК у новорожденных с перенесенной асфиксией выше 60 % заболевание имеет неблагоприятное течение.

Список литературы

1. Неонатология: Национальное руководство / Н.Н. Володин, ред. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. — 896 с.
2. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. — 4-е изд., испр. и доп. — М.: МЕДпресс-информ, 2013. — 288 с.
3. Пальчик А.Б. Лекции по неврологии развития. — 2-е изд. — М.: МЕДпресс-информ, 2013. — 368 с.
4. Приказ МЗ Украины № 225 от 28.03.2014 г. «Начальная, реанимационная и послереанимационная помощь новорожденным в Украине».
5. Тамкович С.Н., Власов В.В., Лактионов П.П. Циркулирующие ДНК крови и их использование в медицинской диагностике // Молекулярная биология. — 2008. — 42. — 1. — С. 12-23.
6. Rainer T.H., Wong L.K.S., Lam W., Yuen E., Lam N.Y.L., Metrewel C. et al. Prognostic use of circulating plasma nucleic acid concentrations in patients with acute stroke // Clin. Chem. — 2003. — 49. — 562-9.
7. Williams G.R., Jiang J.G., Matchar D.B., Samsa G.P. Incidence and occurrence of total (first-ever and recurrent) stroke // Stroke. — 1999. — 30. — 2523-8.

Получено 25.09.16 ■

Постернак Г.І.¹, Бондаренко І.В.¹, Постернак Д.Г.², Збаражський Ю.В.¹

¹ДУ «Луганський державний медичний університет» МОЗ України, м. Рубіжне, Луганська область, Україна

²Луганська обласна дитяча клінічна лікарня, м. Лисичанськ, Луганська область, Україна

ЗМІНА РІВНЯ ЦИРКУЛЮЮЧОЇ ФРАГМЕНТОВАНОЇ ДНК У НОВОНАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ ІЗ ГІПОКСИЧНИМ УРАЖЕННЯМ ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ

Резюме. У роботі досліджували рівень циркулюючої фрагментованої ДНК у крові в новонароджених дітей із гіпоксичним ураженням центральної нервової системи. Залежно від ступеня змін даного показника визначили

тяжкість і глибину ураження центральної нервової системи.

Ключові слова: гіпоксія, ураження центральної нервової системи, новонароджені.

Posternak G.I.¹, Bondarenko I.V.¹, Posternak D.G.², Zbarazhskiy Yu.V.¹

¹State Institution «Luhansk State Medical University» of the Ministry of Healthcare of Ukraine, Rubizhne, Luhansk Region, Ukraine

²Luhansk Regional Children's Clinical Hospital, Lysychansk, Luhansk Region, Ukraine

THE CHANGES IN THE LEVEL OF CIRCULATING FRAGMENTED DNA IN NEWBORNS WITH HYPOXIC DEFEAT OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Summary. This work considers with the level of circulating fragmented DNA in the blood of newborn children with hypoxic defeat of the central nervous system. We have defined the severity and depth of damage to the central

nervous system depending on the extent of changes in this indicator.

Key words: hypoxia, damage of the central nervous system, newborns.