

© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2011
УДК 616.831 – 008 – 053.31:618.3

Зависимость между степенью тяжести перинатальных гипоксических повреждений ЦНС и ответной реакции фетоплацентарной системы на воспаление

С.А.Гусейнова, В.А.Велиева, С.Н.Мухтарова, М.Р.Кулиев, С.М.Алескерова

Азербайджанский медицинский университет, Бакинский клинический родильный дом № 5 имени Ш.Алескеровой
Баку, Азербайджан

Целью исследования было изучить влияние патофизиологических механизмов на степень тяжести перинатальных гипоксических повреждений центральной нервной системы у новорожденных в первые сутки жизни. Обследовано 40 доношенных новорожденных, перенесших среднюю тяжесть и тяжелую степень асфиксии. Определяли активность плацентарной щелочной фосфатазы, концентрацию нейроспецифической эналазы и миелопероксидазных антител в пуповинной крови, L-селектин в периферической крови. Показано, что уровень межклеточной молекулы адгезии L-селектина в пуповинной крови в значительной степени повышен по сравнению с новорожденными, перенесшими хроническую внутриутробную гипоксию. Выявлена прямая коррелятивная связь ($r=0,89$; $p<0,05$) между уровнем L-селектина в пуповинной крови и активностью щелочной фосфатазы в плацентарной ткани.

Таким образом, у новорожденных, родившихся в асфиксии, на фоне хронической внутриутробной гипоксии определяются глубокие патофизиологические изменения центральной нервной системы.

Ключевые слова: плацентарная щелочная фосфатаза, внутриутробная гипоксия, адгезивные молекулы.

ВВЕДЕНИЕ

Перинатальное гипоксически-ишемическое поражение центральной нервной системы является причиной возникновения серьезных не-

врологических изменений, повышения показателей заболеваемости и смертности не только в неонатальном периоде, но и во всех возрастных периодах [1, 2]. Хроническая внутриутробная гипоксия приводит к нарушению процессов обмена и необратимым изменениям на клеточном уровне, тем самым снижая защитные компенсаторные способности как в системе «мать — плацента — плод», так и в тканях мозга плода. Эти изменения проявляются не только отдельными структурными изменениями нервной системы, но и нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера, а также нарушением системы сложных обменных реакций [3]. Широко используемые клинико-инструментальные методы ранней диагностики перинатальных гипоксически-ишемических повреждений ЦНС как в антенатальном, так и в неонатальном периоде хоть и дают полное представление о локализации и степени тяжести патологического процесса, ранняя неонатальная адаптация прежде всего зависит от индивидуальных свойств организма, от степени морфофункциональной зрелости, от формирования ответных реакций на воспалительные процессы на клеточном уровне.

Проводимые в последние годы многочисленные методы исследования свидетельствуют о значительном влиянии на перинатальные исходы изменений уровня некоторых биологически активных веществ как в организме плода и беременной женщины, так и в тканях плаценты. Поэтому на современном этапе проводятся многочисленные исследования для поиска более чувствительных маркеров с диагностической и прогностической точки зрения.

Целью исследования было изучить влияние патофизиологических механизмов на степень тяжести перинатальных гипоксических повреждений ЦНС у новорожденных в первые сутки жизни.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было обследовано 40 доношенных новорожденных, перенесших среднюю тяжесть и тяжелую степень асфиксии. В 1 группу были включены 25 новорожденных с развившейся асфиксией на фоне хронической внутриутробной гипоксии, во 2 группу — 15 новорожденных с интранатальным повреждением, несмотря на благоприятное течение беременности. Контрольную группу (3 группа) составили 15 здоровых доношенных новорожденных от матерей с нормальным физиологическим течением беременности и родов. Степень тяжести асфиксии была оценена по шкале Апгар, а хроническая внутриутробная гипоксия плода была определена с помощью кардиотокографии и доплерометрии фетоплацентарной системы женщин с осложненным течением беременности. Основной причиной асфиксии в обеих группах была преждевременная отслойка плаценты, которая в 1 группе составила 48% (n=12), во 2 группе — 6,6% (n=10). Другие причины асфиксии, такие как обвитие пуповины вокруг шеи плода два и более раз (в 1 группе — 40%, во 2 группе — 20%), стремительные роды (в 1 группе — 12%, во 2 группе — 14%), преждевременное излитие околоплодных вод (в 1 группе — 10%, во 2 группе — 8%), слабость родовой деятельности (в 1 группе — 20%, во 2 группе — 10%) имели вышеуказанные процентные соотношения.

Во время родов была взята кровь из пупочной вены у всех новорожденных для определения антител на миелопероксидазу (МПА), L-селектин и нейроспецифическую энолазу (НСЭ). Сразу после родов было проведено гистохимическое исследование плаценты и определение активности щелочной фосфатазы в тканях плаценты.

Активность плацентарной щелочной фосфатазы определялась в гомогенате с помощью набора реактивов фирмы «Human» (Германия) кинетическим методом. Принцип метода основывается на образовании комплексного соединения желтого цвета в результате расщепления p-нитрофенилфосфата под действием фермента на p-нитрофенол. Активность щелочной фосфатазы прямо пропорциональна интенсивности цвета. Образцы плацентарной ткани, взятые из центральной и периферической части были обследованы после гомогенизации.

НСЭ и МПА определялись иммуноферментным анализом — ELISA тест-системой в пуповинной крови с помощью реактивов Cap Ag (Швейцария). L-селектин определялся иммуноферментным методом в периферической крови с использованием реактивов Genesis (Англия).

Статистическая обработка клинических данных проводилась непараметрическим методом Уилкоксона-Манна-Уитни и на основе t критерия Стьюдента. Также была произведена коррелятивная связь между отдельными показателями с помощью метода Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уровни МПА, L-селектин и НСЭ, определяемые в пуповинной крови по группам, указаны в табл. 1. МПА и L-селектин определялись с целью диагностики ответной реакции фетоплацентарной системы на воспалительный процесс, а НСЭ — для оценки нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера в зависимости от степени тяжести перинатального гипоксического повреждения ЦНС.

Как видно из табл. 1, уровень МПА повышается при острой асфиксии. МПА образуется в организме беременной женщины в зависимости от ее индивидуальной иммунной системы и участвует во внутриклеточном метаболизме, ее функция направлена против фермента миелопероксидазы, являющегося основным компонентом в антиоксидантной системе (4). Об изменении уровня МПА во время беременности и родов имеется очень мало литературных данных. Известно, что иммунологическая адаптация организма на беременность у каждой беременной женщины протекает по-разному. Образующиеся во время беременности аутоиммунные антитела направлены против отдельных структурных элементов клетки, ферментных систем, участвующих во внутриклеточном метаболизме, а также против миелопероксидазы.

В последние годы особое внимание уделяют нейроспецифическим белкам, которые, наряду с межклеточными молекулами адгезии, играют большую роль в патогенезе внутричерепных кровоизлияний и перивентрикулярной лейкомаляции новорожденных [5].

Повышение уровня этих показателей в периферической крови в последние месяцы беременности и во время родов связано с нейроэндокринными и активными метаболическими изменениями, происходящими в фетоплацентарной системе в условиях относительной гипоксии. Относительное постоянство и даже некоторое снижение уровня МПА в пуповинной крови новорожденных, подвергшихся внутриутробной хронической гипоксии, по сравнению с контрольной группой, скорее всего, связано с истощением компенсаторных механизмов плаценты и нарушением иммунологической ауторегуляции беременности.

ТАБЛИЦА 1

Уровень МПА, L-селектина и НСЭ в пуповинной крови исследуемых групп

Группы	Статистические показатели	МПА, Ед/мл	L-селектин, нг/мл	НСЭ, мг/л
1 группа	M±m	0,29±0,022**	10,5±0,96**	39,7±1,23**, ***
	max – min	(0,03-0,8)	(8,2-13,6)	(16,9-45,9)
2 группа	M±m	0,57±0,03*	20,6±1,24*, ***	10,8±0,91*
	max – min	(0,3-1,4)	(8,2-21,8)	(5,9-13,1)
3 группа	M±m	0,31±0,012	8,3±0,98**	4,5±0,86*
	max – min	(0,06-0,8)	(1,8-18,6)	(3,4-10,2)

Примечания: * – в сравнении с 1 группой $p < 0,05$; ** – в сравнении со 2 группой $p < 0,05$; *** – в сравнении с 3 группой $p < 0,05$.

Подобные результаты получены также при изучении уровня L-селектина. L-селектин, являясь молекулой межклеточной адгезии, отвечает за формирование ответной реакции на воспалительный процесс и миграции лейкоцитов в воспалительный очаг [6]. В перинатальном периоде, когда в организме происходят сложные иммунологические и нейроэндокринные нарушения, изменение уровня этой молекулы в результате выполняемой основными группами лейкоцитов полифункциональной клеточной функции играет важную роль в формировании различных патологических реакций со стороны органов и систем плода и новорожденного [7].

Очевидно, что уровень межклеточной молекулы адгезии L-селектина в пуповинной крови у новорожденных, перенесших острую асфиксию в родах, в значительной степени повышен по сравнению с новорожденными, перенесшими хроническую внутриутробную гипоксию. Это показывает мобилизацию компенсаторных защитных механизмов в системе «мать – плацента – плод» во время острой асфиксии. По данным литературы, уровень L-селектина меняется в зависимости от степени морфофункциональной зрелости организма и его снижение наблюдается в основном у недоношенных. Низкий уровень этого показателя у доношенных, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию, свидетельствует о снижении ответной реакции на воспалительный процесс не только головного мозга, но и всего организма, что подтверждает в значительной степени высокий уровень НСЭ в 1 группе по сравнению со 2 и 3 группами.

Таким образом, длительная фетоплацентарная недостаточность приводит к серьезным структурным и функциональным изменениям в нервной ткани, и это проявляется нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера. С понижением ответной реакции организма на воспаление в условиях хронической внутриутробной гипоксии повышается степень поврежде-

ния нервной ткани. Уровень НСЭ у новорожденных, родившихся в асфиксии, но не перенесших хроническую внутриутробную гипоксию, повышается в очень незначительной степени, и эта разница не носит статистической значимости по сравнению с контрольной группой. Это свидетельствует о выраженном нарушении гематоэнцефалического барьера в результате перенесенной хронической внутриутробной гипоксии у доношенных новорожденных. По литературным данным, НСЭ, являясь основным иммунохимическим показателем повреждения нервной ткани и нарушения гематоэнцефалического барьера, считается одним из широко используемых маркеров определения степени тяжести перинатальных гипоксически-ишемических повреждений ЦНС и его прогноза [8].

Во время определения уровня щелочной фосфатазы в плацентарной ткани были получены результаты, соответствующие вышеизложенным. Уровень щелочной фосфатазы составил $55,4 \pm 8,4$ п/к у новорожденных 1 группы, во 2 группе этот показатель составил $159,5 \pm 6,8$ п/к, разница между этими показателями имеет статистическое значение ($p < 0,05$). В контрольной группе средний показатель уровня этого фермента составил $94,4 \pm 4,6$ п/к.

Была выявлена прямая коррелятивная связь ($r = 0,89$; $p < 0,05$) между уровнем L-селектина в пуповинной крови и активностью щелочной фосфатазы в плацентарной ткани.

Щелочная фосфатаза, являясь ферментом, обеспечивающим компенсаторные функции плаценты, повышается во время ряда воспалительных и инфекционных процессов [9]. Параллельное повышение активности этого фермента с L-селектином во время острой асфиксии вызывает мобилизацию защитных механизмов фетоплацентарной системы. Как и при других ответных реакциях на воспаление длительная хроническая внутриутробная гипоксия приводит к истощению активности щелочной фосфатазы.

ВЫВОД

Таким образом, подтверждаются более глубокие патофизиологические изменения центральной нервной системы у новорожденных, родившихся в асфиксии, на фоне хронической внутриутробной гипоксии. Однако для определения точных диагностических и прогностических критериев необходимо проведение более расширенной научно-исследовательской работы и совместного анализа катамнестических показателей с полученными результатами в раннем неонатальном периоде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Володин Н.Н., Рогаткин С.О., Медведев М.И. Актуальные проблемы перинатальной неврологии на современном этапе // Журнал неврологии и психиатрии. — 2001. — Т. 101, № 7. — С. 4-9.
2. Volpe J.J. Hypoxic-ischemic encephalopathy. In: Volpe J.J., ed. Neurology of the Newborn. — Philadelphia, PA: WB Saunders, 2001.
3. Мухтарова С.Н. Клинико-иммунохимические критерии нарушений функций гематоэнцефалического барьера и его коррекция у новорожденных с перинатальными гипоксическим поражением центральной нервной системы: дисс. ... к.мед.н. — Баку, 2009.
4. Renliang Zhang, Marie-Luise Brennan, Zhongzhou Shen et al. Myeloperoxidase Functions as a Major Enzymatic Catalyst for Initiation of Lipid Peroxidation at Sites of Inflammation // The Journal Of Biological Chemistry. — 2002. — Vol. 277, №48. — P. 46116–46122.
5. Wijnberger L.D., Nikkels P.G., van Dongen A.J., Noorlander C.W., Mulder E.J., Schrama L.H., Visser G.H. Expression in the placenta of neuronal markers for perinatal brain damage // Pediatr. Res. — 2002 — №51 (4). — P. 6-492.
6. Linda J. Rinko, Michael B. Lawrence, and William H. Guilford. The Molecular Mechanics of P- and L-Selectin Lectin Domains Binding to PSGL-1 // Biophysical Journal. — 2004. — Vol. 86. — P. 544–554.
7. Kotecha S., Silverman M., Shaw R.J., Klein N. Soluble L-selectin concentration in bronchoalveolar lavage fluid obtained from infants who develop chronic lung disease of prematurity // Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed. — 1998. — №78. — P. 143-147.
8. Takaaki Kirino, Milton W. Brightman, Wolfgang H. Oertel et al. Neuron-specific enolase as an index of neuronal regeneration and reinnervation // The Journal of Neuroscience. — 1983. — Vol. 3, №5. — P. 915-923.
9. Whyte M.P., Landt M., Ryan L.M. et al. Alkaline phosphatase: placental and tissue-nonspecific isoenzymes hydrolyze phosphoethanolamine, inorganic pyrophosphate, and pyridoxal 5'-phosphate. Substrate accumulation in carriers of hypophosphatasia corrects during pregnancy // J. Clin. Invest. — 1995. — №95 (4). — P. 1440–1445.

С.А.Гусейнова, В.А.Велиева, С.Н.Мухтарова, М.Р.Кулиев, С.М.Алескерова. Залежність між ступенем тяжкості перинатальнихгіпоксичних уражень ЦНС та відповідної реакції фетоплацентарної системи на запалення. Баку, Азербайджан.

Ключові слова: плацентарна лужна фосфатаза, внутрішньоутробна гіпоксія, адгезивні молекули.

Метою дослідження було вивчити вплив патофізіологічних механізмів на ступінь тяжкості перинатальних гіпоксичних уражень центральної нервової системи у новонароджених у першу добу життя. Обстежено 40 доношених новонароджених, які перенесли асфіксію середньої тяжкості та важкого ступеня. Визначали активність плацентарної лужної фосфатази, концентрацію нейроспецифічної енлази та мієлопероксидазних антитіл в пуповинній крові, L-селектин у периферичній крові. Показано, що рівень міжклітинної молекули адгезії L-селектину у пуповинній крові в значному ступені підвищений у порівнянні з новонародженими, що перенесли хронічну внутрішньоутробну гіпоксію. Виявлено прямий корелятивний зв'язок ($r=0,89$; $p<0,05$) між рівнем L-селектину в пуповинній крові та активністю лужної фосфатази в плацентарній тканині.

Таким чином, у новонароджених, які народилися в асфіксії, на фоні хронічної внутрішньоутробної гіпоксії визначаються глибокі патофізіологічні зміни центральної нервової системи.

S.A.Guseinova, V.A.Velieva, S.N.Muhtarova, M.R.Kuliev, S.M.Aleskerova. The severity of perinatal hypoxic damage of central nervous system and inflammatory response of fetoplacental system. Baku, Azerbaijan.

Key words: placental alkaline phosphatasae, intrauterine hypoxia, adhesion molecules.

The aim of this work is to study the effect of pathophysiologic mechanisms to the severity of perinatal hypoxic damage of central nervous system. 40 term moderate and severe asphyxiated newborns were observed. The activity of placental alkaline phosphatasae was detected in placental homogenate myeloperoxidasae antibodies and neurospecific enolase concentrations were determined, L-selectin was detected in peripheral blood. The level of intracellular adhesion molecule L selectin in umbilical cord of infants asphyxiated in delivery was significantly higher than in newborns with intrauterine chronic hypoxia. It was detected positive correlation ($r=0,89$; $p<0,05$) between L-selectin level of umbilical cord blood and alkaline phosphatasae activity of placental tissue. More serious pathophysiologic changes of nervous system occur in infants born with asphyxia on the background of intrauterine chronic hypoxia.

Надійшла до редакції 12.03.2011 р.