

Правдухина Г.П.<sup>1</sup>, Скоромец А.П.<sup>2</sup>, Голочалова С.А.<sup>3</sup>

## Перинатальная гипоксически-ишемическая энцефалопатия: новые возможности диагностики, нейропротекции и прогнозирования

1 - БУЗОО «Городская детская клиническая больница №2», «Городской клинический перинатальный центр», г. Омск; 2 - Северо-Западный государственный медицинский университет им.М.И.Мечникова, г. Санкт-Петербург; 3 - Омская государственная медицинская академия, г. Омск

*Pravdukhina G.P., Skoromets A.P., Golochalova S.A.*

### Perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy: new diagnostic capabilities, neuroprotection and forecasting

#### Резюме

Полученные в ходе проспективного рандомизированного исследования (n=60) данные свидетельствуют о возможности прогнозирования неврологического исхода и выработки тактики нейропротективной терапии при гипоксически-ишемической энцефалопатии по тесту определения уровня титров аутоантител к рецепторам NMDA.

**Ключевые слова:** перинатальная гипоксия-ишемия, аутоантитела, рецепторы NMDA, нейропротекция

#### Summary

btained in a prospective randomized study (n = 60) data indicate the possibility of predicting neurological outcome and policy making neuroprotective therapy for hypoxic-ischemic encephalopathy by the test determine the level of autoantibody titers receptor NMDA.

**Keywords:** perinatal hypoxia-ischemia, autoantibodies, receptors NMDA, neuroprotection

#### Введение

В настоящее время продолжают оставаться серьезные дискуссии по вопросам патогенеза, предрасположенности, факторах риска, распространенности, диагностирования перинатальной энцефалопатии, а также подходам к лечению и реабилитации детей. Кроме того, актуальность рассматриваемой проблемы обусловлена также существенными различиями в представлениях о данной патологии в России и за рубежом [1]. Большую часть 20 века считалось, что причина перинатального поражения головного мозга это интранатальная асфиксия. В последние 20 лет взгляд на этот вопрос изменился благодаря многим исследованиям, которые показали, что около 70-90% церебрального паралича не связано с интранатальным периодом и у большинства детей отмечены эпизоды асфиксии/гипоксии еще до рождения [2]. У здорового плода имеются аэробные и анаэробные пути выхода из транзиторной или легкой гипоксии. Защита плода от гипоксии зависит от типа и тяжести повреждения, зрелости плода и общего состояния организма. Показано, что огромную роль в патогенезе повреждения ткани головного мозга играет ауторегуляция сосудистого русла. При средней выраженной гипоксии кровотоков перераспределяется в ключевые органы, а внутри головного мозга кровотоков

также перераспределяется, поступая в первую очередь в структуры необходимые для автономной регуляции (ствол мозга). Способность к централизации кровотока зависит от срока гестации. При внезапно наступившей тяжелой асфиксии адаптация происходит по тем же механизмам, но более стремительно. Продолжающаяся тяжелая асфиксия приводит к истощению адаптационных механизмов и прогрессии гипотензии и гипоперфузии, таким образом, поступление кислорода снижается. Анатомо-физиологические особенности детей грудного возраста таковы, что иногда даже обширное повреждение мозга в первом полугодии жизни может не вызывать неврологический дефицит и очаговые нарушения, и этот период обозначают как «немой» [3,4]. Новорожденные дети, имеющие неврологические проблемы, как правило, рождаются у женщин, относящихся к категории повышенного или высокого перинатального риска (бесплодие, привычное невынашивание, экстрагенитальные заболевания и пр.). Именно действие факторов в антенатальном периоде, фон, на котором плод вошел в состояние асфиксии во время родов, а не продолжительность натальной асфиксии, является определяющим дальнейший прогноз. Асфиксия продолжительностью более 10 минут чаще возникает на неполноценной метаболической и морфо-

функциональной основе мозга, пострадавшего на ранних этапах онтогенеза [5]. Поэтому у детей с высоким риском поражения головного мозга гипоксического характера необходима тщательная диагностика этих состояний.

На сегодняшний день диагностика гипоксических поражений мозга у новорожденных является результатом комплексной оценки состояния ребенка. Она включает в себя изучение течения беременности и родов у женщины, данных неврологического обследования, изучение метаболических показателей новорожденных, данных дополнительных методов обследования: нейросонография, доплерография, различных видов томографии – компьютерная, магнитно-резонансная, позитронно-эмиссионная; нейрофизиологических – электроэнцефалография, полиграфия, вызванные потенциалы, различные виды электромиографии; диагностических пункций – люмбальной, субокципитальной и т.д. [6]. Наиболее информативными методами определения ишемического поражения головного мозга являются методы нейровизуализации, их прогностическая ценность составляет около 90%. Перспективным направлением на сегодняшний день является поиск биохимических маркеров для диагностики гипоксически-ишемических поражений мозга. В последние годы уделяется большое внимание определению аутоантител к глутаматным рецепторам как маркерам церебральной ишемии. В частности, активно используется, определение в периферической крови аутоантител к субъединицам AMPA и NMDA глутаматных рецепторов [7]. Данные, полученные с помощью этого метода, позволяют оценить выраженность эксайтотоксичности глутамат-кальциевого каскада, обусловленной значительным увеличением концентрации глутамата в синаптической щели и межклеточном пространстве после ишемического воздействия. Существенно то, что уже через 10 мин после первичной тяжелой церебральной ишемии происходит значительное высвобождение глутамата с последующим прогрессивным увеличением его концентрации и сохранением на высоком уровне не менее 3 ч. Этого времени достаточно для необратимого (некроз, апоптоз) повреждения нейронов в зоне первичного очага и активации механизмов вторичной ишемии мозга в перифокальной зоне [8]. Дегградация NMDA-рецепторов, наблюдаемая в результате процессов нейротоксичности, которые лежат в основе ишемического повреждения мозга, позволяет судить о степени поражения церебральных сосудов. Диагностическое значение NR2-антител при ишемическом инсульте с объемом ишемии 5–70 кубических сантиметров приближается к 95,9 %, а при ТИА — к 98 %. [5]. Практически все исследования этого профиля проводятся на взрослых пациентах. Показана достоверная корреляционная связь между уровнем титра антител к разным подтипам глутамат зависимых рецепторов и клинической картиной у больных с различными неврологическими заболеваниями: острыми нарушениями мозгового кровообращения, эпилепсией, миастенией. Однако, потенциальные возможности определения уровня аутоантител к рецепторам глутамата для прогноза психомоторного развития детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС не изучены.

**Целью** настоящего исследования было сопоставление уровня аутоантител к структурным компонентам AMPA (GluR1) и NMDA (NR2A) рецепторов глутамата у детей родившихся в асфиксии средней тяжести с различной динамикой восстановления неврологического статуса на фоне медикаментозной коррекции.

## Материалы и методы

Объектом исследования были дети новорожденные доношенные дети (n=105), родившиеся с асфиксией средней тяжести, имеющие церебральную ишемию II-ой степени. Основная группа (n=55) – дети, в комплексное лечение которых был включен корковый пептидный биорегулятор кортексин. Группа сравнения (n=50) – дети, получавшие стандартную терапию. Группы до лечения были сопоставимы по количеству, полу, возрасту, неврологической симптоматике.

Кортексин применялся у детей с трёхдневного возраста по рекомендуемой схеме 0,5мг/кг в сутки в/м, 10 дневным курсом. Безопасность использования препарата, нами постоянно контролировалась. Побочных эффектов от введения препарата не наблюдалось.

Для оценки неврологического статуса использовалась шкала оценки психомоторного развития детей 1-го года жизни Л.Т. Журбы и Е.М. Мастоюковой, позволяющая определять уровень психомоторного развития детей в баллах. Использовались стандартные нейросонографические методы.

Определение уровня аутоантител к структурным компонентам GluR1 и NR2A глутаматовых рецепторов в сыворотке крови пациентов проводили по методу С.А. Дамбиновой (институт мозга человека РАН, СПб). Использовался соответствующий диагностический набор ИФА-тест. У 60-ти детей (основная: n=32, сравнения: n=28), отобранных с помощью метода рандомизации (генератор случайных чисел) была исследована сыворотка крови на уровень аутоантител к структурным компонентам GluR1 и NR2A-NMDA-рецепторам до лечения и через 5-7 дней после лечения.

Статистическую обработку полученного материала осуществляли с помощью пакета прикладной программы MedCalc версия 10.2.2.0, согласно современным требованиям к проведению анализа медицинских данных [10]. Различия между зависимыми выборками использовали t-критерий Стьюдента для зависимых выборок. Специфичность и чувствительность диагностического теста, а также порога разделения и классификации признаков по уровню прогностической значимости строилась характеристическая кривая (ROC). Для определения предикторов качественных изменений неврологического состояния новорожденных в постнатальном периоде использовали логистический регрессионный и дискриминантный анализ. При всех видах статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась, а альтернативная принималась при  $\alpha$ -ошибке  $< 0,05$  ( $p < 0,05$ ) и  $\beta$ -ошибке = 0,25, при этом мощность исследования была на уровне 0,7-0,8.

## Результаты и обсуждение

При сравнении групп статистически значимых различий содержания антител к рецепторам GluR1 и NR2A до лечения не было выявлено, что свидетельствовало об их изначальной схожести (однородности) и, вероятно, одинаковой степени повреждения ткани головного мозга сравниваемых пациентов.

Установлено, что после лечения у детей основной группы разница уровня антител к рецепторам GluR1 была на 30,3% меньше, а рецепторам NR2A – на 26,6% меньше, чем в группе сравнения.  $p < 0,05$ . (табл. 1).

По суммарной оценке динамики неврологического статуса все пациенты были разделены на 3 группы: выраженное улучшение, улучшение, незначительное улучшение. При соотношении динамики неврологического статуса с динамикой уровня аутоантител к структурным компонентам рецепторов NMDA выявлена сильная корреляционная связь неврологического статуса и уровня аутоантител к глутаматовым рецепторам – наибольшее содержание антител выявлялось у детей с более тяжелой неврологической симптоматикой. (Для определения возможных предикторов по тесту: титры антител в остром периоде до лечения – варианты неврологической динамики) проведен ROC- анализ, ДИ- 95%. Выявлены пороги отсека.

Данные ROC-анализа(табл.2) свидетельствуют о том, что с помощью определения титра антител к GluR1 и NR2A в сыворотке крови до лечения возможно предсказание характера динамики неврологического статуса

и исхода острого периода. Для пациентов с выраженным улучшением неврологического статуса на выходе характерны значения титра антител к GluR1 до лечения  $< 0,378$  нг/мл, для NR2A  $< 0,437$  нг/мл. Для пациентов с незначительным улучшением эти показатели были соответственно  $\geq 0,743$  и  $> 1,034$  нг/мл, а пациенты с улучшением неврологического статуса укладывались в рамки  $0,378-0,742$  нг/мл по GluR1 и  $0,437-1,034$  нг/мл по NR2A.

Таким образом, тест определения антител к глутаматовым рецепторам обладает достаточно высокой чувствительностью и специфичностью и является полезным предиктором для практики. Рассчитанные нами точки разделения (пороги отсека) с высокой долей вероятности позволяют отделить пациентов по предполагаемому прогнозу динамики неврологического статуса по типу: «Выраженное улучшение» и «Улучшение», «Улучшение» и «Незначительное улучшение». Таким образом, нами установлено, что снижение титра антител (прохождение точек разделения  $0,743$  и  $0,378$  нг/мл для GluR1,  $1,034$  и  $0,437$  нг/мл для NR2A) приводит (отражает) динамику восстановления неврологического статуса до нормального состояния. При повышении у новорожденных в сыворотке крови уровня титра антител к GluR1 до  $0,743$  нг/мл и выше, а к NR2A до  $1,034$  нг/мл и выше прогнозируется высокая вероятность сохранения неврологических отклонений. Наиболее точно направленность динамики неврологического состояния может быть предсказана по титру антител к NR2A(табл.3)

**Таблица 1. Уровень аутоантител к структурным компонентам GluR1 и NR2A-NMDA-рецепторов у детей сравниваемых групп до и после лечения**

Рецептор	Основная группа (n=32)		Параметры t-теста
	До лечения	После лечения	
GluR1	0,437±0,203	0,315±0,236	0,032*
NR2	0,570±0,235	0,447±0,210	0,048*
Группа сравнения (n=28)			
GluR1	0,529±0,356	0,452±0,256	0,37
NR2	0,731±0,452	0,609±0,373	0,28

Примечание: \* – различия статистически значимы в сравнении с «до лечения» при  $p < 0,05$  (t-критерий Стьюдента для зависимых выборок).

**Таблица 2. Результаты ROC-анализа подгрупп «Выраженное улучшение», «Улучшение», «Незначительное улучшение» в остром периоде**

Показатель	Точка разделения	AUC (95% ДИ)	p	Чувствительность, % Специфичность, %
«Незначительное улучшение» / «Улучшение»				
Титр антител к GluR1	$\geq 0,743$	0,97 (0,85-0,99)	$< 0,0001$ *	87,6 (82,4-98,2) 90,0 (55,5-99,7)
Титр антител к NR2A	$> 1,034$	0,90 (0,75-0,98)	$< 0,0001$ *	83,3 (51,6-97,9) 95,2 (76,2-98,8)
«Улучшение» / «Выраженное улучшение»				
Титр антител к GluR1	$\geq 0,378$ нг/мл	0,95 (0,84-0,99)	$< 0,0001$ *	91,3 (72,0-98,9) 90,0 (68,3-98,8)
Титр антител к NR2A	$\geq 0,437$ нг/мл	0,79 (0,64-0,90)	$< 0,0001$ *	65,4 (44,3-82,8) 85,7 (63,7-97,0)

Примечание: \* – различия при сравнении ROC с диагональю статистически значимы (z-критерий). Площадь под ROC (AUC), чувствительность и специфичность имеют средние и высокие значения.

**Таблица 3. Результаты применения логистической регрессии для краткосрочного прогноза динамики неврологического статуса по содержанию антител к рецепторам глутамата в остром периоде**

Переменная (предиктор)/модель	Коэффициенты	Константа	AUC	Корректное предсказание	p
GluR1 (незначительное улучшение или улучшение)	-24,9	18,6	0,98 (0,85-1,0)	86,6%	0,03*
NR2A	5,36	-5,47	0,90 (0,75-0,97)	97,9%	0,002*
GluR1 (улучшение или значительное улучшение)	-24,4	9,1941	0,96 (0,84-0,99)	86,1%	0,001*
NR2A	-6,74	3,61	0,79 (0,65-0,9)	70,2%	0,004*

*Примечание.* \* – предсказание статистически значимое. Уравнение модели:  $P=1/(1+e^{-A})$ , где P – вероятность изменения неврологического статуса; A=константа+коэффициент.

## Выводы

У детей, рожденных в асфиксии средней тяжести и церебральной ишемией II-ой степени для прогнозирования исхода неврологической симптоматики к концу первого года жизни и выработки тактики нейропротективной терапии целесообразно определение в остром периоде уровня титра антител в сыворотке крови к субъединицам рецепторов глутамата GluR1 и NR2A. Своевременная оценка тяжести постгипоксических изменений и их адекватная патогенетическая коррекция позволит уменьшить степень выраженности неврологических отклонений у детей к концу первого года жизни. ■

*Правдухина Г.П. – врач-невролог, 1 - БУЗОО «Городская детская клиническая больница №2», «Городской клинический перинатальный центр», г. Омск; Скоромец А.П. – д.м.н. профессор кафедры детской невропатологии и нейрохирургии Северо-Западного государственного медицинского университета им.М.И.Мечникова, г. Санкт-Петербург; Голоцалова С.А. – к.м.н. доцент кафедры педиатрии Омской государственной медицинской академии; Автор, ответственный за переписку - Правдухина Галина Петровна, тел: 8-813-971-4241, e-mail: g.p.pravdukhina@gmail.com*

## Литература:

1. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных // Руководство для врачей. – СПб, Питер. –2000. – С.23–31.
2. Vincent A., Lily O., Palace J. Pathogenic autoantibodies to neuronal proteins in neurological disorders // J. Neuroimmunol. – 1999. – V. 100, N1-2. – P. 169-180.
3. Perrone S., Bracci R., Buonocore G. New biomarkers of fetal-neonatal hypoxic stress // Acta Paediatr Suppl. 2002. – Vol. 91, N 438. – P. 135-138.
4. Шабалов Н. П. Неонатология: учебное пособие: В 2 т. –4-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2006. – 608 с.
5. Ramaswamy V., Horton J., Vandermeer B., Buscemi N., Miller S., Yager J. Systematic review of biomarkers of brain injury in term neonatal encephalopathy // Pediatr Neurol. – 2009. – Vol. 40, N 3. – P. 215-226.
6. Ringger N. C., Giguere S., Morresey P. R., Yang C., Shaw G. Biomarkers of brain injury in foals with hypoxicischemic encephalopathy // J. Vet. Intern. Med. –2011. – Vol. 25, N 1. – P. 132-137.
7. Скоромец А.А., Дамбинова С.А., Дьяконов М.М. и др. Биохимические маркеры в диагностике ишемии головного мозга // Междунар неврол Журн (Украина). – 2009. – Т. 5, №27. – С.15-20.
8. McLaughlin B. The kinder side of killer proteases: caspase activation contributes to neuroprotection and CNS remodeling // Apoptosis. – 2004. – V. 9, N2. – P. 111-121.
9. Журба Л.Т., Мастюкова Е.М. Нарушение психомоторного развития детей первого года жизни. – М.: – 1981. – 272 с.
10. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – 305 с.