



Гурбанова Г.М.¹ ✉, Мамедбейли А.К.², Рагимова Н.Д.¹

¹ Научно-исследовательский институт педиатрии имени К.Я. Фараджевой, Баку, Азербайджан

² Азербайджанский медицинский университет, Баку, Азербайджан

Прогностическое значение определения нейропептидов и апоптотических факторов у новорожденных с судорогами

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, анализ литературы и окончательное редактирование – Гурбанова Г.М.; сбор и обработка данных, анализ результатов и подготовка статьи – Рагимова Н.Д.; сбор и обработка данных – Мамедбейли А.К.

Подана: 20.02.2023

Принята: 17.04.2023

Контакты: mic_amu@mail.ru

Резюме

Цель исследования. Изучение содержания нейронспецифической энолазы (NSE), белка S-100, активированной молекулы лейкоцитарной клеточной адгезии (ALCAM), «рецептора смерти» Death Receptor (DR5) в сыворотке крови у новорожденных детей с неонатальными судорогами.

Материалы и методы. Проведено проспективное исследование 110 новорожденных с судорогами со сроком гестации от 38 до 42 недель.

Результаты. В ходе проведенных исследований установлено, что уровень NSE у новорожденных с судорогами достоверно превышал концентрацию нейропептидов новорожденных контрольной группы в 3,1 раза; S-100 в 3,3 раза; ALCAM в 2,5, DR-5 в 2,1 раза по сравнению со здоровыми новорожденными. При проведении корреляционного анализа выявлены множественные связи с анамнестическими, клиническими, иммунохимическими показателями новорожденных с судорогами.

Выводы. Экспрессия нейропептидов и факторов апоптоза у новорожденных на фоне гипоксически-ишемической энцефалопатии с нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера приводит к поддержанию судорожной активности и усугубляет дальнейший неблагоприятный неврологический исход.

Ключевые слова: нейропептиды, факторы апоптоза, неонатальные судороги

Gurbanova G.¹ ✉, Mammadbayli A.², Rahimova N.¹

¹ Scientific Research Institute of Pediatrics named after K.Y. Farajova, Baku, Azerbaijan

² Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

Prognostic Value of Determining Neuropeptides and Apoptotic Factors in Newborns with Seizures

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: the concept and design of the study, literature analysis and final editing – Gurbanova G.; collection and processing of data, analysis of the results and preparation of the article – Rahimova N.; data collection and processing – Mammadbayli A.

Submitted: 20.02.2023

Accepted: 17.04.2023

Contacts: mic_amu@mail.ru

Abstract

The purpose of the research. To study the content of neurospecific enolase (NSE), S-100 protein, activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM), and Death Receptor (DR5) in the blood serum of newborns with neonatal seizures.

Materials and methods. There was carried out a prospective study of 110 newborns with seizures with age stationary age of 38 to 42 weeks.

Results. As a result of the studies, there was found that the level of NSE in newborns with seizures reliably exceeded the concentration of neuropeptides in newborns of the Control Group by 3.1 times; S-100 by 3.3 times; ALCAM by 2.5; and DR-5 by 2.1 times compared with healthy newborns. Correlation analysis revealed multiple links with anamnestic, clinical, and immunochemical parameters of newborns with seizures.

Conclusions. The expression of neuropeptides and apoptosis factors in newborns on the background of hypoxicischemic encephalopathy with a violation of the permeability of the blood-brain barrier leads to the maintenance of seizure activity and exacerbates further unfavorable neurological outcome.

Keywords: neuropeptides, apoptosis factors, neonatal seizures

■ ВВЕДЕНИЕ

Неонатальные судороги являются сложной и актуальной проблемой современной неонатологии и педиатрии в целом, так как остаются наиболее частыми и тяжелыми неврологическими осложнениями у новорожденных детей [1–3]. Частота судорог в популяции новорожденных колеблется в пределах 1–5%, достигая 20% у недоношенных детей [4–7]. Неонатальные судороги связаны с риском нарушений неврологического развития, рецидивирующего характера судорожного синдрома и развитием эпилепсии. Судороги в неонатальном периоде регистрируются наиболее часто по сравнению с любыми другими возрастными периодами детского возраста [8].

В настоящее время для диагностики церебральной патологии у новорожденных наряду с анамнестическими, клиническими, параклиническими исследованиями большое значение придается лабораторной диагностике, включающей определение

нейронспецифических белков (НСБ), позволяющих в короткие сроки объективно выявить и оценить структурные изменения центральной нервной системы (ЦНС) [9].

Особенную актуальность приобрели в последние годы исследования роли проапоптотических, нейротрофических и ростовых факторов в нарушении функций ЦНС в перинатальном периоде [10].

Перинатальная гипоксия инициирует процессы, приводящие к повышению проницаемости клеточных мембран, гибели нейронов и глиальных клеток вследствие некроза и апоптоза [11].

Одним из индикаторов процесса запрограммированной гибели клеток является «рецептор смерти» – Death Receptor (DR5). К индуцирующим апоптоз факторам относятся также провоспалительные факторы – молекула клеточной адгезии ALCAM и белок астроцитарной глии S-100.

В связи с этим большой интерес представляет изучение проапоптотических и нейротрофических факторов у новорожденных с судорогами.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение содержания нейронспецифической энolahзы (NSE), белка S-100, активированной молекулы лейкоцитарной клеточной адгезии (ALCAM), «рецептора смерти» Death Receptor (DR5) в сыворотке крови у новорожденных детей с неонатальными судорогами.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное исследование 110 новорожденных с судорогами, поступивших на стационарное лечение в Научно-исследовательский институт педиатрии в отделения реанимации и интенсивной терапии, патологии новорожденных и недоношенных детей. Большинство новорожденных, 71 (64,5%±3,0), поступали из районов Азербайджана, остальные 39 (35,5%±2,0) – из города Баку. Сформировано две группы: I основная группа – 110 новорожденных с судорогами, II группа – 25 условно здоровых новорожденных, родившихся от нормально протекавшей беременности (физиологические роды). Возраст матерей колебался от 17 лет до 41 года, в среднем составив 26,5±5,2 года. В основной группе первая беременность была у 48 (43,6±3,1%) матерей, повторная (2–8) беременность была у 62 (56,4±3,1%) женщин. Первородящих было 52 (47,3±3,1%), повторнородящих 58 (52,7%±3,1%). Согласно гестационному возрасту к моменту рождения включенные в обследование новорожденные были рождены при сроке гестации от 38 до 42 недель, с массой тела от 2600 г до 4500 г (2656,0±678,7%), длиной тела от 31 до 56 см (47,1±6,0%). Мальчиков было 177 (67,8±2,9%), девочек – 84 (32,2±2,9%). Всем детям в неонатальном периоде было проведено комплексное клинико-инструментальное и лабораторное исследование. С целью диагностики структурных церебральных поражений и для подтверждения клинических признаков перинатального поражения ЦНС проводилось нейросонографическое исследование (НСГ). По показаниям выполнялись компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ), эхокардиография, эхография, а также ультразвуковая доплерография церебральной гемодинамики. Проводились биохимические, серологические и иммунохимические исследования. В ходе исследования изучался антенатальный и интранатальный период и оценивался неврологический статус. Определение содержания цитокинов HCE, белка S-100, ALCAM, DR5

в сыворотке крови выполняли стандартным методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием диагностических тест-систем производства «Вектор-Бест» (Новосибирск) на анализаторе ElisysUnoHuman (Германия). Полученные цифровые данные подвергли статистической обработке методами медицинской статистики. Применены методы вариационного (U-критерий Манна – Уитни, KU-критерий Краскела – Уоллиса), дисперсионного (ANOVA F-Фишер, FS-критерий Фишера – Снедекора), дискриминантного (чувствительность и специфичность) и ROC-анализов. Вычисления проводили в электронных таблицах Excel 2013 и SPSS 20.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение анамнестических данных, антенатальных, интранатальных факторов риска с использованием статистических методов показало, что у матерей доношенных новорожденных с судорогами высокий процент экстрагенитальных заболеваний ($31,8 \pm 3,7\%$, $\chi^2=15,4$, $p<0,001$) гинекологических заболеваний ($49,1 \pm 3,6\%$, $\chi^2=37,1$, $p<0,001$), угрозы прерывания беременности ($9,1 \pm 2,5\%$, $\chi^2=11,290$, $p<0,001$), анемии беременных ($40,0 \pm 3,6\%$, $\chi^2=14,9$, $p<0,001$).

Доношенные новорожденные основной группы в 52 (47,3%) случаях при рождении на 1-й минуте оценивались в 6–7 баллов, в 16 (14,5%) – 4–5 баллов, в 37 (33,6%) случаях – 0–3 балла. На пятой минуте жизни новорожденные с судорогами в основном восстанавливались и имели оценку по шкале Апгар 8–10 баллов. Судороги у наблюдаемых новорожденных развивались на фоне перинатального гипоксического поражения ЦНС. Морфологические изменения представлены гипоксически-ишемическим поражением ЦНС у 81, гипоксически-геморрагическим поражением ЦНС у 12, гипоксически-инфекционным поражением ЦНС у 8, метаболическими нарушениями у 9 новорожденных.

Дебют судорог в первые 3 суток регистрировался у 61 ($55,0 \pm 3,1\%$) новорожденного, частота судорог у доношенных выше на 11,1% по сравнению с недоношенными новорожденными. В период от 3 до 7 дней судороги отмечались у 20 ($18,2 \pm 2,3\%$) новорожденных детей. Поздний дебют, т. е. в период 7 дней и более, судорог выявлялся у 21 ($19,1 \pm 2,8\%$) новорожденного, в основном у недоношенных – 53 (35,1%) против 21 (19,1%) у доношенных. Обследованные новорожденные чаще поступали в стационар в тяжелом ($42 (38,2 \pm 2,9\%)$) и очень тяжелом состоянии – 40 ($36,4 \pm 3,0\%$). В преагональном состоянии были 22 ($20,0 \pm 2,3\%$), летальность отмечалась у 6 ($5,5 \pm 1,6\%$) новорожденных. Синдром угнетения был у 66 ($60,0 \pm 3,1\%$), синдром гипервозбудимости – у 13 ($11,8 \pm 2,2\%$), неонатальная кома – у 2 ($1,8 \pm 0,7\%$), гипертензионный синдром – у 19 ($17,3 \pm 2,4\%$) новорожденных детей. Согласно нейросонографическим исследованиям отек мозга регистрировался у 83 (31,8%) ($\chi^2=20,1$; $p<0,001$), вентрикуломегалия у 20 (18,1%) ($\chi^2=5,2$; $p=0,029$), вентрикулит у 20 ($18,2 \pm 2,3\%$) ($\chi^2=8,81$; $p=0,003$), внутрижелудочковые кровоизлияния у 16 ($15,3 \pm 2,4\%$) ($\chi^2=12,3$; $p=0,006$) новорожденных основной группы. В результате электроэнцефалографических исследований было выявлено, что в большинстве случаев у 49 (44,5%) новорожденных отмечался полиморфный характер судорог, т. е. сочетание различных видов судорог. У 64 (24,5%) новорожденных отмечались атипичные судороги. Клонические судороги чаще регистрировались у 34 (30,9%) доношенных. Судороги миоклонического характера встречались у 21 (13,9%) доношенного новорожденного. Судороги тонические встречались всего у 3 (2,7%) новорожденных.

В исследуемых группах нами также был определен уровень С-реактивного белка (СРБ), который является наиболее часто используемым в клинической практике маркером инфекционного процесса. У новорожденных основной группы уровень СРБ составил $40,1 \pm 2,7$ (6–96) г/л и превышал показатели контрольной группы в 3,1 раза ($F=10,2$; $p<0,001$). Согласно проведенным исследованиям, полиорганные нарушения отмечались у 35 ($31,8 \pm 3,0\%$) ($\chi^2=10,2$; $p<0,001$) новорожденных с судорогами, при этом у недоношенных частота встречаемости этих поражений на 8,3% больше по сравнению с доношенными детьми.

С целью прогнозирования развития неонатальных судорог проводилось изучение особенностей нейропептидной активности у новорожденных на фоне гипоксически-ишемического поражения ЦНС (табл. 1).

Анализ концентрации выявил, что уровень NSE в основной группе достоверно превышал концентрацию вышеуказанных нейропептидов новорожденных контрольной группы в 3,1 раза ($F=38,8$; $\chi^2=11,2$; $p<0,001$); S-100 в 3,3 раза ($F=12,8$; $\chi^2=29,4$; $p<0,001$); ALCAM в 2,5 раза ($F=9,6$; $\chi^2=17,9$; $p=0,003$), DR-5 в 2,1 раза ($F=7,1$; $\chi^2=17,9$; $p=0,09$) по сравнению со здоровыми новорожденными.

При проведении корреляционного анализа т-Кендалла выявлены множественные корреляционные связи с другими показателями новорожденных. Прямая средней силы корреляционная связь отмечалась между нейропептидами и морфологическими изменениями ЦНС (внутрижелудочковыми кровоизлияниями, церебральной ишемией, вентрикулитом, вентрикуломегалией). Отрицательная связь выявлена между экспрессией NSE, S-100 и низкой оценкой по шкале Апгар при рождении ($\tau=-0,186^{**}$, $p=,001$), С-реактивного белка ($\tau=-0,133^{**}$, $p=,029$), мультиорганной дисфункцией ($\tau=-0,132^{**}$, $p=,032$). Корреляционная зависимость установлена между повышенным уровнем ALCAM и полиорганной дисфункцией ($\tau=0,399^{**}$, $p=,000$), дебютом судорог ($\tau=0,368^{**}$, $p=,001$), тяжестью состояния новорожденного ($\tau=0,444^{**}$, $p=,000$), уровнем NSE ($\tau=0,284^{**}$, $p=,009$). Между уровнем DR-5 и NSE отмечена корреляционная взаимосвязь средней силы ($\tau=0,354^{**}$, $p=,001$).

Таблица 1
Нейропептидный статус новорожденных с судорогами
Table 1
Neuropeptide status of neonates with seizures

Нейропептиды, pg/ml	Контрольная группа	Основная группа
NSE	$5,5 \pm 0,3$ (3,2–11)	$17,1 \pm 1,2^{**}$ (2,7–58)
S-100	$0,6 \pm 0,1$ (0,3–1,2)	$2,2 \pm 0,3^{**}$ (0,2–11)
ALCAM	$1,7 \pm 0,3$ (0,8–21)	$4,2 \pm 0,4^*$ (0,8–21)
DR-5	$4,1 \pm 0,5$ (1,2–8,7)	$8,4 \pm 0,9^*$ (2,2–28)

Примечания: результаты представлены в виде $M \pm m$, M – среднее значение, m – стандартная ошибка, (min–max) – размах вариации: минимальные и максимальные значения ряда; статистическая достоверность разницы с показателями контрольной группы: * $p<0,01$; ** $p<0,001$.



Таблица 2
Анализ ANOVA в оценке уровня нейропептидов у новорожденных с судорогами
Table 2
ANOVA analysis in the assessment of neuropeptide levels in neonates with seizures

Нейропептиды	F (Fisher)	EIF% (Snedecor)	LB95	UB95	PFS
NSE	44,9	133,3	131,7	134,9	0,000
S-100	47,9	39,0	35,8	42,2	0,000
ALCAM	39,0	62,8	61,1	64,8	0,000
DR5	39,1	32,1	29,5	36,1	0,000

Аналогичны корреляционные взаимосвязи между NSE и гестозом 1-й половины, экстрагенитальной патологией, анемией новорожденных, С-реактивным белком, провоспалительными цитокинами.

Для доношенных оптимальной «точкой отсечения» для S-100 является величина 1,26 пг/мл. В этой точке чувствительность (Sn) равна $61,8 \pm 6,6\%$, специфичность (Sp) $100,0 \pm 0,0\%$; ALCAM $\geq 1,5$ – Sn = $93,7 \pm 3,1\%$, Sp = $65,0 \pm 10,7\%$; DR-5 $\geq 2,8$ – Sn = $93,5 \pm 3,1\%$, Sp = $50,0 \pm 11,2\%$.

Для оценки значимости нейропептидов и силы влияния их экспрессии на реализацию судорожного синдрома у новорожденных использован дисперсионный метод (FS-критерий Фишера – Снедекора) с вычислением 95% нижней и верхней границ (табл. 2).

Согласно результатам исследований, проведенных в отделении реанимации и патологии новорожденных, наиболее значимое влияние на развитие неонатальных судорог оказывает повышенный уровень концентрации (S-100, NSE, DR-5). Гиперпродукция изученных провоспалительных нейромаркеров свидетельствует о тяжелом гипоксическом поражении центральной нервной системы, которое клинически у новорожденных проявляется судорожным синдромом. Таким образом, экспрессия нейропептидов у новорожденных с ГИЭ приводит к нарушению проницаемости гематоэнцефалического барьера и поддержанию судорожной активности, тем самым усугубляя дальнейший неблагоприятный неврологический исход.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного комплексного исследования новорожденных с судорогами выявлен повышенный сывороточный уровень концентрации нейропептидов (NSE, S-100), факторов апоптоза (ALCAM, DR-5). Установлена корреляционная взаимосвязь этих маркеров с формированием сочетанного поражения ЦНС в неонатальном периоде (внутрижелудочковыми кровоизлияниями, церебральной ишемией, вентрикулитом, вентрикуломегалией). Несомненно, это играет очень важную роль в прогнозировании клинических ухудшений у детей этой группы риска. К факторам, высоко коррелирующим с формированием неонатальных судорог, относятся S-100, NSE, DR5. Но необходимо отметить, что ALCAM и DR5 не являются специфичными для поражения мозга факторами.

Повышенная концентрация нейропептидов у новорожденных на фоне ГИЭ с нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера приводит к поддержанию судорожной активности и усугубляет дальнейший неблагоприятный неврологический исход. Таким образом, экспрессия нейропептидов может служить

дополнительным маркером своевременной диагностики и прогнозирования неонатальных судорог, постгипоксических структурных нарушений в нервной ткани и патологического исхода.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Boylan G., Stevenson N., Vabhatalo S. Monitoring neonatal seizures. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2013;18(4):202–208.
2. Hart A., Pilling E., Alix J. Neonatal seizures – part 1: Not everything that jerks, stiffens and shakes is a fit. *Arch. Dis. Child Educ. Pract. Ed.* 2015;100:170–175.
3. Jensen F., Silverstein F. Neonatal seizures. *Swaiman's Pediatric Neurology: Principles and Practice 5th edition* [Internet]. Edinburgh: Elsevier; 2012 [Cited 2016 Aug 15]. Available from: ClinicalKey Australia.
4. Garg P.R., Saraswathy K.N., Kalla A.K., Sinha E., Ghosh P.K. Pro-inflammatory cytokine gene polymorphisms and threat for coronary heart disease in a North Indian Agrawal population. *Gene.* 2013;514(1):69–74.
5. Glass H. Neonatal seizures: advances in mechanisms and management. *Clin. Perinatol.* 2014;41(1):177–190.
6. Rao S., Lewis B., Ghosh S., Nagarajan L. Clinical approach to neonatal seizures. *Neonatal seizures: current treatment and future challenges*. London: Mac Keith Press, 2016.
7. Sivaswamy L. Approach to neonatal seizures. *Clin. Pediatr. (Phila)*, 2012;51(5):415–425.
8. Garcia-Alix A., Arnaez J. Value of brain damage biomarkers in cerebrospinal fluid in neonates with hypoxic-ischemic brain injury. *Biomark Med.* 2022. doi: 10.2217/bmm-2021-0381
9. Hajduková L., Sobek O., Prchalová D., Bílková Z., Koudelková M., Lukášková J., Matuchová I. Biomarkers of Brain Damage: S100B and NSE Concentrations in Cerebrospinal Fluid – A Normative Study. *Biomed Res Int.* 2015;2015:379071. doi: 10.1155/2015/379071
10. Ruby Jose Neuron Specific Markers in Preterm Infants. *Neonat Pediatr Med.* 2021;7(4). doi: 10.4172/2572-4983.1000211.
11. Roka A., Kelen D., Halasz J. Serum S-100B and neuron-specific enolase levels in normothermic and hypothermic infants after perinatal asphyxia. *Acta Paediatr.* 2012;101(3):319–323.