

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-3-15-21>

ПРЕДИКТОРЫ ТЯЖЁЛОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

РЕМНЁВА О.В., ФАДЕЕВА Н.И., КОРЕНОВСКИЙ Ю.В., КОЛЯДО О.В.*

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Барнаул, Россия

Резюме

Цель. Выявление информативных предикторов тяжёлой церебральной ишемии у недоношенных новорождённых.

Материалы и методы. Обследовано 80 новорожденных, рожденных в сроке 28 – 34 недели гестации, и перенесших ante- и интранатальную гипоксию. Определены уровень матричной металлопротеиназы-9 (ММП-9) и активность основных показателей оксидантно-антиоксидантного статуса: супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и тиобарбитурат-реактивных продуктов в пуповинной крови недоношенных новорожденных сразу после рождения.

Результаты. Исследование продемонстрировало, что повышенный уровень ММП-9 и тиобарбитурат-реактивных продуктов в пуповинной крови новорожденных ассоциирован с тяжёлой церебральной ишемией.

Заключение. ММП-9 и тиобарбитурат-реактивные продукты могут быть использованы в качестве предикторов тяжелых поражений центральной нервной системы у недоношенных новорожденных.

Ключевые слова: перинатальное поражение ЦНС, матричная металлопротеиназа-9, окислительный стресс, недоношенный новорожденный, преждевременные роды.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Ремнева О.В., Фадеева Н.И., Кореновский Ю.В., Колядо О.В. Предикторы тяжёлой церебральной ишемии у недоношенных новорожденных. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019. Т. 4, № 3. С. 15-21.

ORIGINAL RESEARCH

PREDICTORS OF SEVERE CEREBRAL ISCHEMIA IN PREMATURE INFANTS

OLGA V. REMNEVA, NATALIA I. FADEEVA, YURIY V. KORENOVSKIY, OLGA V. KOLYADO*

Altai State Medical University (40, Lenina Street, Barnaul, 656038), Russian Federation

Abstract

Aim. To identify informative predictors of severe cerebral ischemia in preterm neonates.

Materials and Methods. Study sample consisted of 80 preterm infants with intrauterine hypoxia or perinatal asphyxia delivered on the 28th-34th week of gestation. Levels of matrix metalloproteinase-9

(MMP-9) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as well as activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in cord blood plasma of premature infants were evaluated immediately after birth.

Results. As compared to other newborns, neonates with severe cerebral ischemia had higher lev-

◀ English

els of MMP-9 (MMP-9 > 305.6 ng/mL in 14.6% versus 69.7%, respectively) and TBARS in cord blood plasma.

Conclusion. MMP-9 and TBARS measured in cord blood plasma of preterm infants may be uti-

lised in diagnostics of severe cerebral ischemia.

Keywords: intrauterine hypoxia, perinatal asphyxia, severe cerebral ischemia, matrix metalloproteinase-9, oxidative stress, preterm infants, preterm labor.

Conflict of Interest: the authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

For citation:

Olga V. Remneva, Natalia I. Fadeeva, Yuriy V. Korenovskiy, Olga V. Kolyado. Predictors of severe cerebral ischemia in premature infants. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2019; 4 (3): 15-21.

Введение

Гипоксия является основной причиной перинатального поражения центральной нервной системы [1 – 4]. У недоношенных новорожденных церебральная ишемия и лейкомаляция наблюдаются в 88% случаев [5,6]. Знания, основанные на патофизиологии церебральной ишемии, привели к открытию роли матриксных металлопротеиназ и ферментов оксидантного и антиоксидантного статуса как потенциальных биомаркеров повреждения тканей нервной системы. Известно, что существует ряд функциональных и биохимических маркеров перинатальных повреждений центральной нервной системы (ЦНС), предложенных для оценки их наличия и степени тяжести. У недоношенных новорожденных наблюдается высокая частота неврологических нарушений, что связано с морфофункциональной незрелостью и рядом анатомических особенностей нервной системы [5,6]. Именно неврологическая патология вносит основной вклад в структуру смертности и инвалидности недоношенных детей [5,6]. Перспективы диагностики поражения нервной ткани, по-видимому, будут развиваться по направлениям, с одной стороны, поиска малоинвазивных методов получения плодового материала, с другой стороны, выявления специфических предикторов поражения ЦНС плода в периферической крови матери. Поиск новых маркеров основан на знании основных патофизиологических процессов, сопровождающих процесс ишемии/гипоксии. В условиях ишемического повреждения головного мозга избыток активных форм кислорода и дефицит антиоксидантов инициируют продукцию провоспалительных цитокинов, что приводит к активации синтеза матриксных металлопротеиназ (ММП) нейтрофилами и клетками соединительной ткани [7 – 11]. В связи с этим перспективным пред-

ставляется изучение показателей перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты в крови новорожденных, перенесших ante- и интранатальный дистресс, а также изучение активности ММП как основных мишеней свободных радикалов.

По мнению некоторых авторов, ММП-9 является ранним маркером повреждения головного мозга у доношенных новорожденных, а ее определение может быть использовано с целью диагностики и прогнозирования перинатальной энцефалопатии [7,11]. Задачей нашего исследования было оценить информативность ММП-9 и показателей окислительного стресса в пуповинной крови недоношенных детей непосредственно после рождения в качестве предикторов перинатальных гипоксических поражений ЦНС и прогностических маркеров степени их тяжести.

Цель исследования

Выявление информативных предикторов тяжелой церебральной ишемии у недоношенных новорожденных.

Материалы и методы

Были изучены и проанализированы биохимические маркеры развития тяжелой церебральной ишемии (ЦИ) у 80 недоношенных новорожденных, перенесших ante- или интранатальный дистресс, матери которых были родоразрешены в 28-34 недели беременности. Ретроспективно новорожденные разделены на две группы с учетом способа родоразрешения и тяжести диагностированной у них ЦИ: I группа – 42 новорожденных, родившихся путём операции кесарева сечения, в том числе 1А подгруппа – 21 ребёнок с лёгкой и средней ЦИ и 1Б подгруппа – 21 новорожденный с тяжёлой степенью ЦИ; II группа – 38 новорожденных,

родившихся через естественные родовые пути. Из них была выделена IIА подгруппа – 26 детей, имевших лёгкую и среднюю ЦИ и IIБ подгруппа – 12 детей с тяжёлой ЦИ.

В пуповинной крови обследуемых детей были определены уровни ММП-9, тиобарбитуратреактивных продуктов (ТБРП) и основных ферментов антиоксидантной защиты: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГП). Пуповинную кровь забирали сразу после рождения. Оксидантный статус определяли с помощью критерия общей прооксидантной активности, оценка которой проводилась фотометрическим методом с использованием спектрофотометра КФК-3 по накоплению в модельной системе с Твин-80 продуктов перекисного окисления липидов при длине волны 535 нм с помощью набора реактивов фирмы ZeptoMetrix Corporation (США). Активность ферментов системы антиоксидантной защиты определяли спектрофотометрическим методом. Для этого использовали вертикальный фотометр Multiscan фирмы Labsystem (Финляндия), длина волны 540 нм. Для определения уровня супероксиддисмутазы использовали реактивы фирмы Dojindo (Япония). Определение уровня каталазы проведено с помощью реактивов фирмы Cayman Chemical (США). Уровень глутатионпероксидазы оценен при использовании реагентов фирмы ZeptoMetrix Corporation (США). Активность матриксной металлопроте-

иназы-9 оценена методом иммуноферментного анализа при длине волны 450 нм. Использован фотометр Multiscan (Labsystem, Финляндия), реактивов RayBiotech (США).

Уровень статистической значимости при проверке нулевой гипотезы считали соответствующим $p \leq 0,05$. С помощью ROC-анализа оценена чувствительность и специфичность уровня ММП-9 для диагностики тяжелой ЦИ. Исследование биопроб проводилось после получения информированного согласия пациентов.

Результаты и обсуждение

В плазме пуповинной крови новорождённых сопоставляемых групп и подгрупп активность СОД, отражающей степень окислительного стресса, не различалась: $1,1 \pm 0,3$; $1,1 \pm 0,2$; $1,1 \pm 0,2$; $1,0 \pm 0,1$ в подгруппах 1А, 1Б, 2А и 2Б соответственно ($p > 0,05$). При этом она имела обратную корреляционную зависимость ($r = -0,40$, $p = 0,006$) с оценкой новорождённого по шкале Апгар при рождении. У детей 2Б подгруппы с тяжёлой ЦИ, перенесших родовой стресс, была обнаружена достоверно более низкая активность КАТ по сравнению с новорождёнными 2А подгруппы ($p < 0,05$) (рисунок 1).

В пуповинной крови новорождённых 1Б подгруппы, имевших тяжёлую ЦИ и родоразрешенных оперативным путем, активность ГП была снижена по сравнению с детьми обеих подгрупп А (рисунок 2).

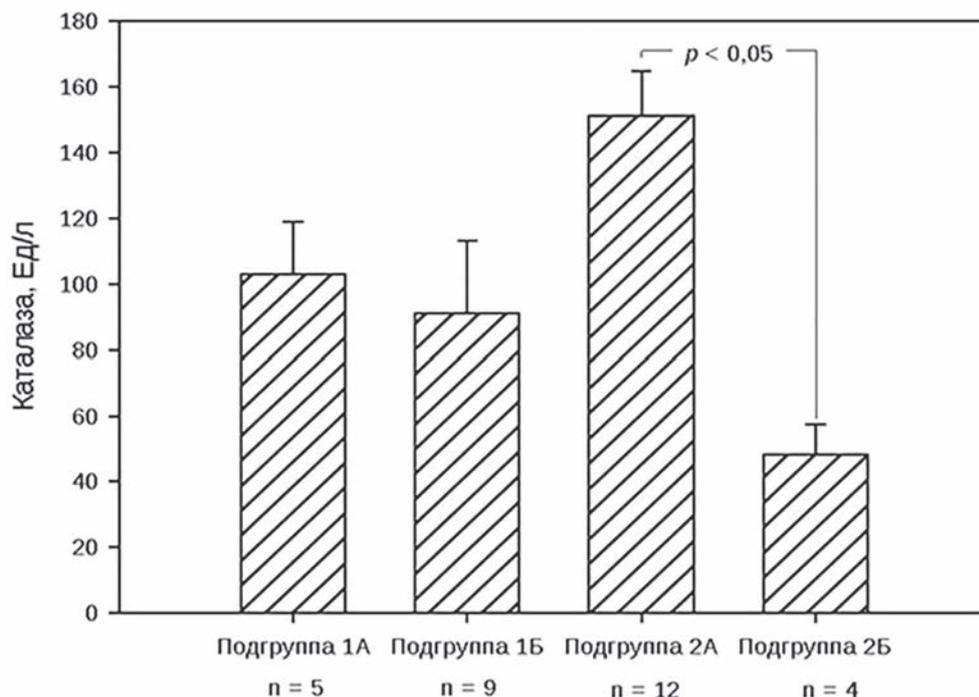


Рисунок 1.

Активность каталазы в пуповинной крови новорожденных.

Figure 1.

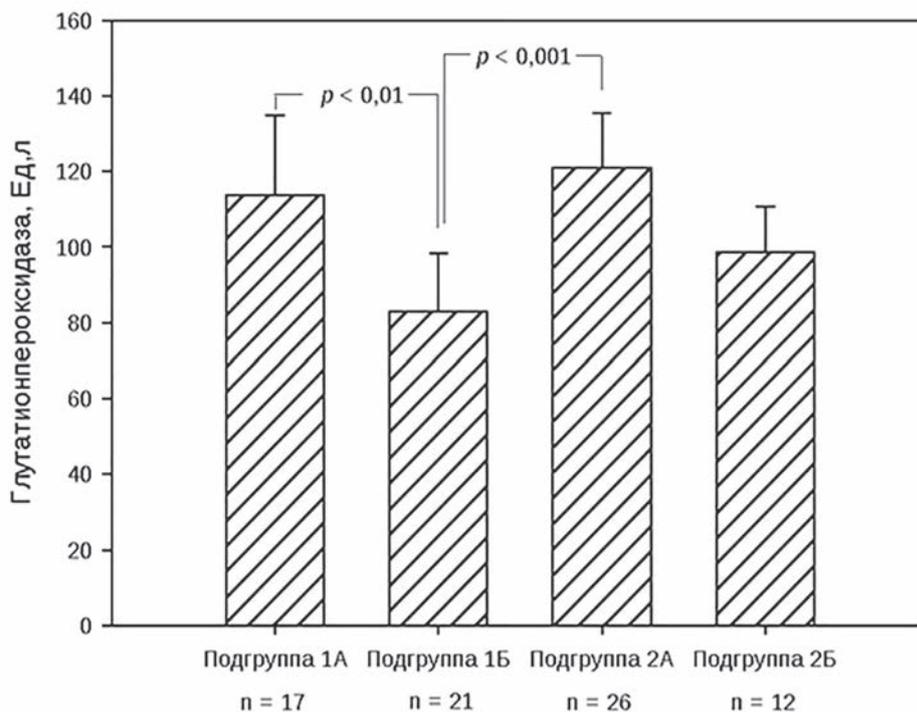
Catalase activity in cord blood plasma of preterm infants.

Рисунок 2.

Активность глутатионпероксидазы (ГП) в плазме пуповинной крови.

Figure 2.

Glutathione peroxidase activity in cord blood plasma of preterm infants.



Концентрация ТБРП в крови новорождённых, имевших тяжёлую ЦИ и родившихся через естественные родовые пути, напротив, была выше по сравнению с таковой у детей после абдоминального родоразрешения и зависела от степени тяжести церебральной ишемии (рисунок 3).

У недоношенных детей с тяжёлой церебральной ишемией нами было выявлено значительное повышение концентрации ММП-9 по сравнению с детьми, имеющими лёгкую и среднюю степень ЦИ (рисунок 4).

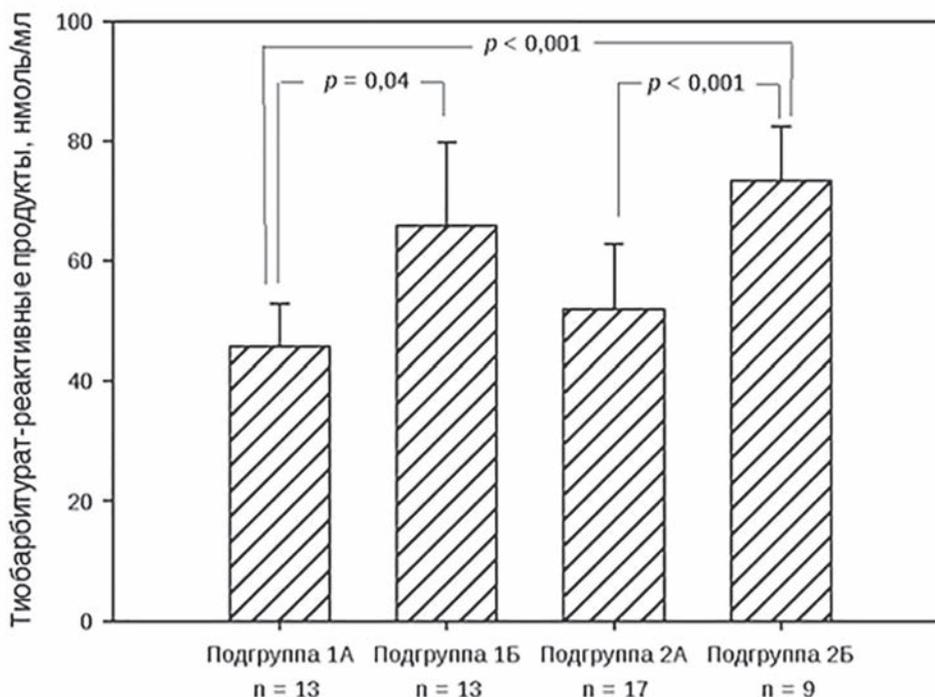
Как видно из рисунка 4, у новорождённых 1Б подгруппы, родоразрешённых абдоминаль-

Рисунок 3.

Активность тиобарбитурат-реактивных продуктов в плазме пуповинной крови.

Figure 3.

Level of thiobarbituric acid reactive substances in cord blood plasma of preterm infants.



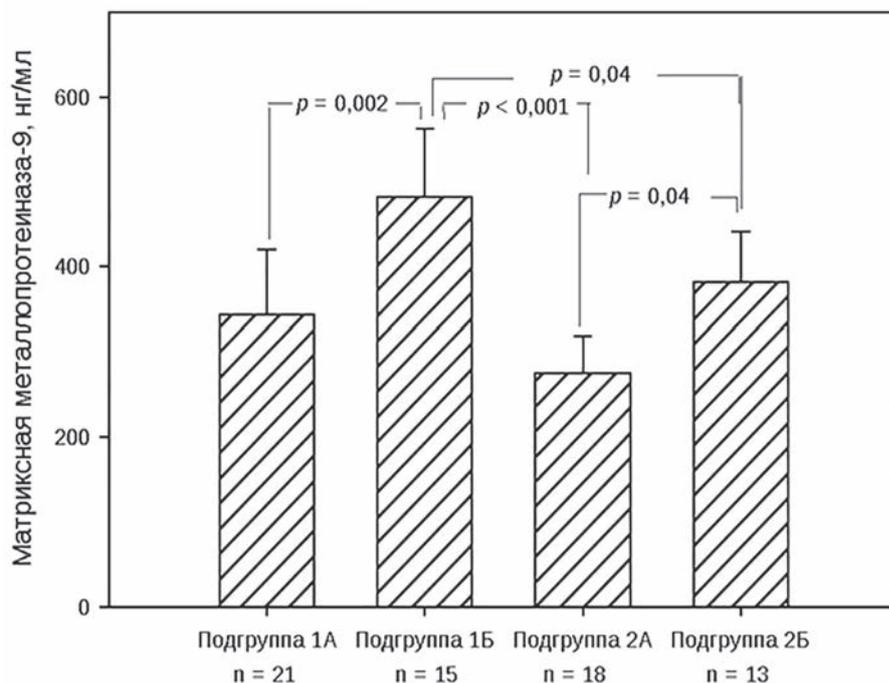


Рисунок 4.

Активность матриксной металлопротеиназы-9 в пуповинной крови недоношенных новорожденных.

Figure 4.

Level of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in cord blood plasma of preterm infants.

ным путём, концентрация ММП-9 была выше, чем таковая у детей 2Б подгруппы ($p=0,04$). Концентрация ММП-9, определенная в плазме пуповинной крови сразу после рождения, прямо коррелировала с балльной оценкой новорожденного по шкале Апгар при рождении ($r=0,36$; $p=0,023$). Кроме того, в плазме пуповинной крови новорожденных, имеющих тяжёлую ЦИ, была обнаружена прямая корреляция между уровнями ММП-9 и ТБРП ($r=0,057$; $p=0,023$).

Для прогнозирования тяжёлой церебральной ишемии у недоношенных новорожденных с помощью ROC-анализа нами была оценена чувствительность и специфичность определения концентрации ММП-9 в плазме пуповинной крови недоношенных новорожденных. Рисунок 5 характеризует зависимость чувствительности (доли положительных) от вероятности (доли ложноположительных) результатов [7].

Как следует из рисунка 5, площадь под ROC-кривой (AUC) составляет 0,783, что указывает на высокую эффективность ROC-модели для прогноза тяжёлой ЦИ у недоношенных новорожденных ($p<0,001$). Модель обладает высокой чувствительностью (92,0%) и средней специфичностью (66,7%). Активность ММП-9 в пуповинной крови, позволяющая разделить новорожденных на группы по тяжести ЦИ (cut-off value), соответствует значению 305,6 нг/мл. Для выяснения зависимости активности ММП-9 в пуповинной крови недоношенных новоро-

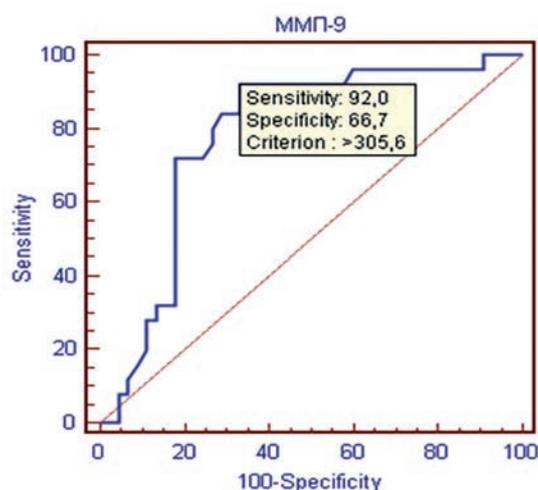


Рисунок 5.

Чувствительность и специфичность определения активности ММП-9 в пуповинной крови недоношенных новорожденных для прогнозирования тяжёлой церебральной ишемии.

Figure 5.

Specificity and sensitivity of matrix metalloproteinase-9 in cord blood plasma of preterm infants to predict severe cerebral ischemia.

Area under the ROC curve (AUC)	0,783
Standard error	0,061
95% Confidence interval	0,668 to 0,872
z statistic	4,635
Significance level P (Area=0.5)	0,0001

жденных и степени нарушения плацентарного кровообращения в антенатальный период, а также характера перинатальных поражений ЦНС, новорожденные были разделены на две группы: с высокой (>305,6 нг/мл) и низкой активностью данного фермента (<305,6 нг/мл).

Мы сопоставили состояние недоношенных новорожденных, имевших разные уровни ММП-9 (таблица 1). Как видно из таблицы 1,

Таблица 1.

Характеристика осложнений периода адаптации у недоношенных новорожденных в зависимости от значений матриксной металлопротеиназы-9.

Table 1.

Complications of adaptation period in preterm infants as depending on the level of MMP-9 in cord blood plasma.

Нозология <i>Disease</i>	Новорождённые со значениями ММП-9 более 305,6 нг/мл (n = 33), абс. (%) <i>Cord blood plasma MMP-9 > 305.6 ng/mL, n (%)</i>	Новорождённые со значениями ММП-9 менее 305,6 нг/мл (n = 34), абс. (%) <i>Cord blood plasma MMP-9 < 305.6 ng/mL, n (%)</i>	P
<i>Respiratory failure</i> - 0 степени / <i>Grade 0</i> - 1 степени / <i>Grade 1</i> - 2 степени / <i>Grade 2</i> - 3 степени / <i>Grade 3</i>	3 (9,1) 14 (42,4) 3 (9,1) 13 (39,4)	8 (23,5) 9 (26,5) 1 (2,9) 16 (47,1)	0,18 0,20 0,35 1,00
Пневмония <i>Pneumonia</i>	8 (24,2)	1 (2,9)	0,01
Церебральная ишемия <i>Cerebral ischemia</i> - 1 степени / <i>Grade 1</i> - 2 степени / <i>Grade 2</i> - 3 степени / <i>Grade 3</i>	3 (9,1) 7 (21,2) 23 (69,7)	4 (11,8) 25 (73,5) 5 (14,7)	1,00 0,0001 0,0001
Внутрижелудочковые кровоизлияния <i>Intraventricular hemorrhage</i>	6 (18,2)	1 (2,9)	0,05
Внутриутробная гипотрофия <i>Intrauterine growth restriction</i>	5 (15,2)	3 (8,8)	0,47

высокие (>305,6 нг/мл) значения ММП-9 отмечались у новорождённых не только со средней и тяжёлой степенью церебральной ишемии ($p < 0,001$), но и при наличии внутрижелудочковых кровоизлияний. Кроме того, у детей с высокими значениями ММП-9 при рождении чаще диагностировались внутриутробные пневмонии ($p = 0,01$) по сравнению с детьми, значения ММП-9 в пуповинной крови которых были ниже 305,6 нг/мл.

Заключение

Таким образом, независимо от способа родоразрешения, тяжёлая церебральная ишемия у недоношенных новорожденных сопровождалась активацией перекисного окисления липидов, что характеризовалось повышением концентрации тиобарбитурат-реактивных продуктов в плазме пуповинной крови недоношенных новорожденных. Наряду с этим, тяжёлая церебральная ише-

мия сочеталась со снижением активности компонентов антиоксидантной защиты: глутатионпероксидазы у рожденных путем кесарева сечения и каталазы у рожденных через естественные родовые пути. Тяжёлая церебральная ишемия у недоношенных новорожденных сопровождалась наличием в плазме их пуповинной крови высокой активности матриксной металлопротеиназы-9, имеющей прямую корреляционную зависимость с концентрацией тиобарбитурат-реактивных продуктов. Высокий уровень матриксной металлопротеиназы-9 в плазме крови сочетался с наличием внутрижелудочковых кровоизлияний и пневмоний у недоношенных новорождённых.

Источник финансирования

Исследование и публикация работы проведены без внешнего финансирования.

Funding

The research has no financial support.

Литература / References:

- Kurinczuk JJ, White-Koning M, Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev.* 2010;86(6):329-338. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2010.05.010
- Lawn JE, Cousens S, Zupan J; Lancet Neonatal Survival Steering Team. 4 million neonatal deaths: When? Where? Why? *Lancet.* 2005;365(9462):891-900. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)71048-5
- Marlow N, Budge H. Prevalence, causes, and outcome at 2 years of age of newborn encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005;(3):193-194. DOI: 10.1136/adc.2004.057059
- Al-Macki N, Miller SP, Hall N, Shevell M. The spectrum of abnormal neurologic outcomes subsequent to term intrapartum asphyxia. *Pediatr Neurol.* 2009;41(6):399-405. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2009.06.001
- Brew N, Walker D, Wong FY. Cerebral vascular regulation and brain injury in preterm infants. *Am J Physiol Regul*

- Integr Comp Physiol.* 2014;306(11):773-786. DOI: 10.1152/ajpregu.00487.2013
6. Ballabh P. Intraventricular hemorrhage in premature infants: mechanism of disease. *Pediatr Res.* 2010;67(1):1-8. DOI: 10.1203/PDR.0b013e3181c1b176
 7. Кореновский Ю.В., Ельчанинова С.А., Шабалина Ю.В. Матриксные металлопротеиназы и тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ при перинатальном поражении центральной нервной системы. *Мать и Дитя в Кузбассе.* 2013;(2(49)):14-17. [Korenovsky YV, Elchaninova SA, Shabalina YV. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in perinatal nervous system lesions. *Mat' i ditya v Kuzbasse.* 2012;(2(49)):14-17. (In Russ.)]
 8. Cunningham L, Wetzel M, Rosenberg G. Multiple Roles for MMPs and TIMPs in Cerebral Ischemia. *Glia.* 2005;50(4):329-339. DOI: 10.1002/glia.20169
 9. Rosell A, Ortega-Aznar J, Alvarez-Sabín J, Fernández-Cadenas I, Ribó M, Molina CA, Lo EH, Montaner J. Increased brain expression of matrix metalloproteinase-9 after ischemic and hemorrhagic human stroke. *Stroke.* 2006;37(6):1399-1406. DOI: 10.1161/01.STR.0000223001.06264.af
 10. Bednarek N, Svedin P, Garnotel R, Favrais G, Loron G, Schwendiman L, Hagberg H, Morville P, Mallard C, Gressens P. Increased MMP-9 and TIMP-1 in mouse neonatal brain and plasma and in human neonatal plasma after hypoxia-ischemia: a potential marker of neonatal encephalopathy. *Pediatr Res.* 2012;71(1):63-70. DOI: 10.1038/pr.2011.3
 11. Yang S, Sharrocks A, Whitmarsh A. MAP kinase signalling cascades and transcriptional regulation. *Gene.* 2013;513(1):1-13. DOI: 10.1016/j.gene.2012.10.033

Сведения об авторах

Ремнёва Ольга Васильевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Барнаул, Россия.
Вклад в статью: научный руководитель исследования.
ORCID: 0000-0002-5984-1109

Фадеева Наталья Ильинична, доктор медицинских наук, профессор, доцент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Барнаул, Россия.
Вклад в статью: осуществляла сбор данных, внесла существенный вклад в концепцию и дизайн статьи.
ORCID: 0000-0002-9930-2062

Кореновский Юрий Владимирович, кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой общей и биологической химии, клинической и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Барнаул, Россия.
Вклад в статью: анализ лабораторных исследований.
ORCID: 0000-0002-4434-5217

Колядо Ольга Викторовна, аспирант кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Барнаул, Россия.
Вклад в статью: сбор, статистическая обработка данных и написание статьи.
ORCID: 0000-0002-5812-4925

Корреспонденцию адресовать:

Колядо Ольга Викторовна
656038, г. Барнаул, ул. Ленина, д. 40
E-mail: kolyado.ov@gmail.com

Статья поступила: 05.07.2019 г.
Принята в печать: 31.08.2019 г.

Authors

Prof. Olga V. Remneva, MD, DSc, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation.
Contribution: conceived and designed the study.
ORCID: 0000-0002-5984-1109

Prof. Natalia I. Fadeeva, MD, DSc, Department of Obstetrics and Gynecology, Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation.
Contribution: conceived and designed the study; collected the data.
ORCID: 0000-0002-9930-2062

Dr. Yuriy V. Korenovskiy, MD, PhD, Head of the Department of General and Biological Chemistry and Clinical and Laboratory Diagnostics, Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation.
Contribution: performed the biochemical measurements.
ORCID: 0000-0002-4434-5217

Dr. Olga V. Kolyado, MD, PhD Student, Department of Obstetrics and Gynecology, Altai State Clinical Perinatal Centre, Barnaul, Russian Federation.
Contribution: collected and processed the data; wrote the manuscript.
ORCID: 0000-0002-5812-4925

Corresponding author:

Dr. Olga V. Kolyado
40, Lenina Street, Barnaul, 656038, Russian Federation
E-mail: kolyado.ov@gmail.com

Received: 05.07.2019
Accepted: 31.08.2019